

**Duplex-Oligonukleotide mit C-nukleosidisch gebundenen Basensurrogaten
und Binder bakterieller DNA-Methyltransferasen**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor rerum naturalium

(Dr. rer. nat.)

im Fach Chemie

eingereicht an der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät I
der Humboldt-Universität zu Berlin

von

Dipl.-Chem. Sven Hainke

Geboren am 01.09.1979 in Eberswalde-Finow

Präsident der Humboldt-Universität zu Berlin

Prof. Dr. Dr. h.c. Christoph Marksches

Dekan der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät I

Prof. Dr. Lutz-Helmut Schön

Gutachter: 1.Prof. Dr. Oliver Seitz
2.Prof. Dr. Jürgen Liebscher
3.Prof. Dr. Elmar Weinhold

Tag der mündlichen Prüfung: 12. 01. 2010

Zusammenfassung

Die hydrolysestabile C-C-Bindung von Nukleosiden, deren Nukleobase über ein aromatisches oder methylen-verbrücktes Kohlenstoffatom an Ribose oder 2-Desoxyribose gebunden ist, ermöglicht die Synthese von neuartigen Strukturen und Eigenschaften, die bei N-Nukleosiden nicht stabil oder nicht gegeben wären. In dieser Arbeit wurde die die Cuprat-vermittelte Glycosylierung und die Friedel-Crafts-Alkylierung als Methoden zur Darstellung von Desoxyribose-basierenden C-Nukleosiden weiterentwickelt. Die Cuprat-vermittelte Glycosylierung ermöglichte die Synthese von C-Nukleosiden in bis zu 93% Ausbeute, wenn Grignard-basierende Normant-Cuprate verwendet wurden. Die Verwendung Organolithium-basierender Gilman-Cuprate war ebenfalls möglich. In Gegenwart von Sauerstoff wurden O-Glycoside isoliert in über 80 % Ausbeute isoliert. Mit den C-Nukleosiden wurden modifizierte Oligonukleotide, die als potentiell verbesserte Binder an M.TaqI und E.coli Dam dienen, dargestellt. Nach ihrer Charakterisierung über Schmelzwerte und Fluoreszenzeigenschaften wurde diese an die Arbeitsgruppe von Prof. Elmar Weinhold weitergereicht und dort erfolgreich als optimierte Binder an an M.TaqI und E.coli Dam getestet. Oligonukleotide, die ein oder mehrere 1,1'-Binaphthyl-Chromophore als einen neuen Typus eines torsionsflexiblen Farbstoffes enthalten, wurden untersucht. Die Einführung mehrerer aufeinander folgender Binaphthyle führte zu einer thermodynamischen Stabilisierung von Duplex-Oligonukleotiden. Die geringe Neigung Binaphthyls zur Selbstlöschung bewirkte dabei einen starken Anstieg der Fluoreszenz.

Schlagwörter:

C-Nukleoside, Oligonukleotide, Cuprat-vermittelte Synthese, DNA-Methyltransferase-Binder

Abstract

The stable C-C-bond of nucleosides, whose nucleobase is attached to the ribose or 2-deoxyribose via an aromatic or methylen-bridged carbon atom, is stable to hydrolyses. This allows the synthesis of new structures and properties, which would not be available in N-nucleosides. In this work, a cuprate-mediated glycosilation and the Friedel-Crafts-alkylation as methods for the preparation of deoxyribose-based C-nucleosides were developed. The cuprate-mediated glycosilation allowed the synthesis of C-nucleosides in up to 93 % yield, when Grignard-based Normant-Cuprates were used. The use of Organolithium-based Gilman-Cuprates was also possible. In the presence of oxygen O-glycosides were isolated in over 80 % yield. With the C-nucleosides modified oligonucleotides, which serve as potentially improved binders of the DNA-methyltransferases M.TaqI und E.coli, were prepared. After their characterisation via melting point measurements and fluorescence properties, the oligonucleotides were given to the working group of Prof. Elmar Weinhold and successfully tested as improved binders of the DNA-methyltransferases M.TaqI und E.coli. Oligonucleotides, which contain one or multiple 1,1'-binaphthyls as a new type of a torsionally flexible chromophore, were characterised. The incorporation of several successive binaphthyls led to a thermodynamical stabilisation of the duplex-oligonucleotides. The low tendency of the Binaphthyl for self-quenching caused a remarkable increase of the fluorescence.

Keywords:

C-nucleosides, oligonucleotides, cuprate-mediated synthesis, DNA-methyltransferase-binders

Die vorliegende Arbeit wurde im Arbeitskreis von Prof. Dr. Oliver Seitz am Institut für Chemie im Fachinstitut für Organische und Bioorganische Chemie der Humboldt-Universität zu Berlin von November 2004 bis September 2009 angefertigt.

Meinen Eltern gewidmet.

Inhaltsverzeichnis

ZUSAMMENFASSUNG	III
ABSTRACT	IV
INHALTSVERZEICHNIS.....	VII
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	X
1 HINTERGRUND	1
2 EINLEITUNG	3
2.1 DIE SYNTHESE VON C-NUKLEOSIDEN	3
2.2 KONZEPTE ZUR NUTZUNG C-NUKLEOSIDISCH MODIFIZIERTER OLIGONUKLEOTIDE	10
2.3 METHYLIERUNG NATÜRLICHER DNA	14
2.3.1 DNA-Methyltransferasen und Infektionen	15
2.3.2 Prokaryotische DNA-Methyltransferasen	16
2.4 INHIBITION VON DNA-METHYLTRANSFERASEN	18
2.4.1 Inhibition mit kleinen Molekülen.....	18
2.4.2 DNA-basierende Inhibitoren.....	20
2.4.3 Inhibitoren von Uracil-DNA-Glycosylase.....	22
2.4.4 Inhibitoren der DNA-Mtase M.TaqI.....	23
3 ZIELSETZUNG	25
4 ERGEBNISSE UND DISKUSSION	27
4.1 AUSWAHL UND DARSTELLUNG VON C-NUKLEOSIDEN	27
4.1.1 Kristallstrukturen von M.TaqI und E.coli Dam	27
4.1.2 Auswahl der Basensurrogate	30
4.1.3 Aromatensynthese.....	32
4.1.4 Friedel-Crafts-Alkylierung.....	34
4.1.5 Die Umsetzung von Hoffer's Chlorozucker mit Organocupraten.....	41
4.1.6 Darstellung des Phenyloxynukleosides und des Indol-N-Nukleosides.....	49
4.1.7 Darstellung der Bausteine für die DNA-Synthese.....	49

4.1.8	<i>Vergleich der Aryl-C-Nukleosidsynthesen mit bekannten Verfahren</i>	52
4.2	C-NUKLEOSID-MODIFIZIERTE OLIGONUKLEOTIDE ALS BINDER AN DNA-MTASEN ..	55
4.2.1	<i>Synthese der Oligonukleotide.....</i>	55
4.2.2	<i>Design der Oligonukleotide</i>	57
4.2.3	<i>Basenpaarungseigenschaften der Oligonukleotide.....</i>	59
4.2.4	<i>Fluoreszenzstudien mit 2-Aminopurin</i>	67
4.2.5	<i>Zusammenfassung der Ergebnisse der Bindungsstudien an M.TaqI und E.coli Dam-Methyltransferase.....</i>	72
4.2.6	<i>Kristallstruktur von M.TaqI im Komplex mit 1-Pyrenyl- und 2-Naphthyl- modifizierten Oligonukleotiden.....</i>	75
4.2.7	<i>Strukturelle Interpretation.....</i>	77
4.3	BINAPHTHYL – EIN NICHTPLANARES BASENSURROGAT	83
4.3.1	<i>Schmelzstudien.....</i>	86
4.3.2	<i>Fluoreszenzeigenschaften.....</i>	90
4.3.3	<i>Diskussion des Teilabschnittes.....</i>	94
5	ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK.....	97
5.1	ZUSAMMENFASSUNG.....	97
5.2	AUSBLICK	104
6	EXPERIMENTELLER TEIL.....	105
6.1	MESSGERÄTE UND HILFSMITTEL	105
6.2	MONOMERSYNTHESEN	108
6.3	SYNTHESE UND AUFREINIGUNG VON OLIGONUKLEOTIDEN.....	171
6.4	OLIGONUKLEOTIDE ALS BINDER AN DNA-METHYLTRANSFERASEN.....	178
6.5	BINAPHTHYL – EIN NICHTPLANARES BASENSURROGAT	178
7	LITERATURVERZEICHNIS	180
8	ANHANG	193
8.1	NMR-SPEKTREN	193
	4-BROMO-[1,1']BINAPHTHYL (114).....	194
8.2	CHROMATOGRAMME UND MALDI-TOF-SPEKTREN DER OLIGONUCLEOTIDE	320
8.3	FLUORESZENZSPEKTREN	329

DANKSAGUNG..... 332

LEBENS LAUF 333

SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG 334

Abkürzungsverzeichnis

Nukleotide werden in der üblichen Weise durch Einbuchstabencode (A, G, C, T) abgekürzt.

Aminosäuren werden durch den Dreibuchstabencode abgekürzt.

Ac	Acetyl
Äq.	Äquivalente
ber.	berechnet
Ccr.M	Zellzyklusregulierte Methyltransferase
Dam	DNA-Adenosin Methylase
DC	Dünschichtchromatographie
DIPEA	Diisopropylethylamin
DMSO	Dimethylsulfoxid
DMT	Dimethoxytrityl
Dnmt	(Säugetier-)DNA-Methyltransferase
DNA-Mtase	DNA-Methyltransferase
dRib	2-Desoxy-D-Ribose
ds	doppelsträngig
EI	<i>electron impact ionisation</i> (Elektronenstoßionisation)
ϵ	Extinktionskoeffizient
ESI	Elektronensprayionisation
<i>et al.</i>	und andere
gef.	gefunden
HPLC	Hochauflösende Flüssigkeitschromatographie

HRMS	Hochaufgelöste Massenspektrometrie
λ_{abs}	Absorptionswellenlänge
λ_{em}	Emissionswellenlänge
λ_{ex}	Anregungswellenlänge
Lsg.	Lösung
NMR	Kernmagnetische Resonanz
MALDI	Matrixunterstützte Laserdesorptionsionisation
MS	Massenspektrometrie
<i>i</i> Pr	iso-Propyl
RT	Raumtemperatur
Schmp.	Schmelzpunkt
ss	einzelsträngig
Taq	<i>thermus aquaticus</i>
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
T _M	Schmelztemperatur
TOF	<i>time of flight</i>
Tol	Toluoyl
t _R	Retentionszeit
u. a.	unter anderem
UDG	Uracil-DNA-Glycosilase
UV	Ultraviolett
vgl.	vergleiche

1 Hintergrund

Der Austausch der vier natürlichen Nukleobasen Adenin, Cytosin, Guanin und Thymin durch künstliche aromatische Basensurrogate erlaubt das Hinzufügen neuer Funktionen in den Basenstapel der DNA.^[1] Aromaten und Heteroaromaten dienen als Formmimetika der natürlichen Nukleobasen oder als künstliche Basenpaare, die dazu genutzt werden, das Verständnis von DNA-DNA und DNA-Protein-Wechselwirkungen zu vergrößern.^[2,3] Viele Basensurrogate besitzen interessante Fluoreszenzeigenschaften, die von den Stapelwechselwirkungen mit ihrer Umgebung abhängen. Die Fluoreszenzeigenschaften oligomerer Anordnungen von Basensurrogaten können gezielt entwickelt werden.^[4] Eine wichtige Gruppe von Basensurrogaten sind hydrolysestabile und zum Teil mit einzigartigen Eigenschaften ausgestattete Aryl-*C*-nukleoside. Wir verfolgen unter anderem das Ziel mit *C*-glycosidisch an die DNA gebundenen Aromaten den Basenausklappmechanismus von DNA-Methyltransferasen zu untersuchen.^[5] Mittels der Informationen zu Struktur und Funktion können stabile DNA-Methyltransferase-Binder entwickelt werden. Um auf Aryl-*C*-nukleosiden basierende Sonden herstellen zu können, die diese und eine wachsende Anzahl weiterer Funktionen erfüllen,^[6,7,8] werden leistungsstarke synthetische Verfahren benötigt. Viele gängige Methoden für die Darstellung von Aryl-*C*-nukleosiden besitzen jedoch Nachteile wie eine geringe Ausbeute, hohe Kosten oder eine mangelnde universelle Einsetzbarkeit. Daher muss weiterhin an der Erweiterung des Spektrums von Verfahren gearbeitet werden, um eine schnelle und effiziente Synthese zu ermöglichen.

Die Methylierung bestimmter Nukleobasen wird von Bakterien für den Erhalt der Integrität ihrer genomischen Information genutzt. Sie erlaubt die Unterscheidung zwischen zelleigener und zellfremder DNA, welche von den Restriktionsendonukleasen selektiv abgebaut wird. Eine zweite, wichtige Aufgabe ist die Dirigierung zelleigener DNA-Reparatursysteme an den nicht-methylierten Tochterstrang während der DNA-Replikation. Die daran anschließende Methylierung wird von DNA-Methyltransferasen durchgeführt. Diese erkennen spezielle DNA-Sequenzen und methylieren jeweils Cytosin an der *N*4- bzw. *C*5-Position oder Adenin an der *N*6-Position (Abb. 1).^[9]

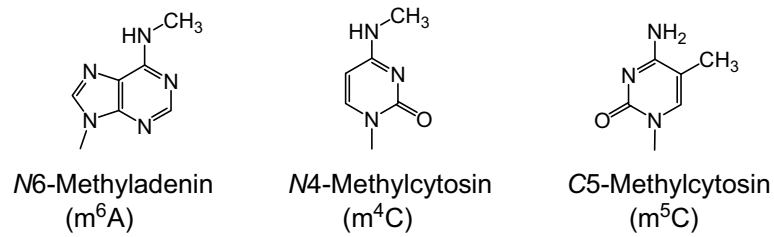


Abbildung 1: Methylierte Nukleobasen.

Im Unterschied zu Bakterien besitzen Säugetiere keine bekannten *N*6-Adenin-spezifischen DNA-Methyltransferasen. Daher kann die Inhibierung dieser Klasse von DNA-Methyltransferasen in Zukunft eine aussichtsreiche Strategie für die gezielte Entwicklung von selektiven Antibiotika darstellen. Die massenhafte Verwendung von Antibiotika in der Medizin und in der Landwirtschaft führt heutzutage zu einer Ausbreitung resistenter und sogenannter multi-resistenter Keime. Auch bei einem verantwortungsvollen Umgang mit Antibiotika erfordert die Anpassungsfähigkeit der Bakterien langfristig die Entwicklung neuer Substanzen und Wirkungsstrategien. Chemisch modifizierte Oligonukleotide, mit denen bakterielle DNA-Methyltransferasen selektiv und mit hohen Bindungsstärken inhibiert werden können, sind hierfür eine Option.

2 Einleitung

2.1 Die Synthese von C-Nukleosiden

Die Darstellung von Analoga der natürlichen Nukleobasen zu medizinischen Zwecken, sowie deren Einbau in Oligonukleotide, sind wichtige Arbeitsfelder der organischen Chemie.^[1] Modifizierte Oligonukleotide finden Verwendung als Fluoreszenzsonden,^[4] in der PCR und weiteren diagnostischen Anwendungen,^[10,11] in mechanistischen Studien zur Aufklärung von DNA-DNA- und DNA-Protein-Wechselwirkungen^[2,3] und weiteren auf dem DNA-Rückgrat basierenden artifiziellen Funktionen.^[6,7,8] Die Bezeichnung C-Nukleoside beschreibt alle Nukleosidbausteine, deren Nukleobase über ein aromatisches oder methylenverbrücktes Kohlenstoffatom mit Ribose oder 2-Desoxy-D-ribose verbunden ist. Die C-C-Bindung ist hydrolysestabil und ermöglicht die Synthese von neuartigen Strukturen und Eigenschaften, die bei einer C-N-Bindung nicht stabil oder nicht gegeben wären. Das Difluortoluolnukleosid **1** wurde in Studien zur Ergründung der Ursache der Spezifität von DNA-Polymerasen verwendet.^[12,13] Es hat den gleichen Raumanpruch wie die natürliche Nukleobase 2'-Desoxythymidin ohne jedoch Wasserstoffbrücken ausbilden zu können. Ein analoges N-Nukleosid **2** hätte deutlich abweichende chemische Eigenschaften. (Abb. 2). In der Vergangenheit ist ein breites Anwendungsgebiet für C-Nukleoside entstanden.

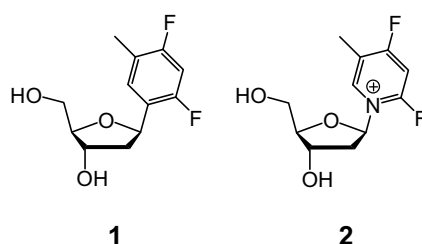


Abbildung 2: Das 2'-Desoxythymidin-Struktur analogon Difluortoluolnukleosid **1** und das potentielle analoge N-Nukleosid **2** im Vergleich.

Im Folgenden werden moderne Synthesemethoden von 2'-Desoxyaryl-C-nukleosiden vorgestellt, die auf der direkten Kupplung einer Zuckereinheit bzw. eines Glycosyl-nukleophiles wie anomeren Halogeniden und Lactonen mit einem vorgeformten Nukleobasenbaustein, meist Organometallverbindungen beruhen und kurz ihre Vor- und Nachteile umrissen. Es existieren weitere, in verschiedenen Reviews erläuterte Verfahren der Aryl-

C-nukleosidsynthese, die auf der Modifikation vorhandener C-Nukleoside oder dem Aufbau des aromatischen Systems am Zucker basieren.^[14,15,16] Die Hauptlimitationen der C-Nukleosidsynthese sind oftmals geringe Ausbeuten, ungünstige Diastereomereenselektivität, die Verwendung von teuren Glycosyldonoren und toxischen Reagenzien sowie die Notwendigkeit, die Diastereomere in zeitaufwendigen Arbeiten zu trennen.^[17]

Die Heck-Kupplung des Glycals **3**, welche auf Daves Jr. *et al.* zurückgeht, ist die leistungsfähigste Methode für die Synthese von Aryl-C-Nukleosiden (Abb. 3A).^[18,19] Vorwiegend werden Aryliodide oder -triflate verwendet, wobei eine große Bandbreite von Aromaten eingesetzt werden kann.^[20] Da eine sterisch äußerst anspruchsvolle *tert*-Butyl-diphenylsilyl-Schutzgruppe die α -Seite des Glycals **3** abschirmt, kann der Angriff der, mit katalytischen Mengen Palladiumsalz aktivierten Aromaten, nur β -selektiv, von der Oberseite, erfolgen. Nach der Deblockierung von **5** mit Tetrabutylammoniumfluorid wird das gebildete Keton mit NaBH(OAc)₃ selektiv zum gewünschten Nukleosid **6** reduziert.

Die Umsetzung von 2-Desoxyribonolactonen mit Organolithiumreagenzien ist eine weitere gängige Methode, um überwiegend β -diastereomere Produkte zu erhalten. Es können jedoch Trennprobleme auftreten, da das α -Diastereomer in geringeren Mengen im Produktgemisch enthalten sein kann. Wichai und Woski haben das 1,1,3,3-tetra-isopropylidisiloxy-geschützte Desoxyribonolacton **8** eingesetzt (Abb. 3B).^[21] Die Umsetzung führte zum cyclischen Lactol **9**, welches in einem weiteren Schritt reduziert wurde. Die Abspaltung der Schutzgruppe und die Abtrennung des α -Diastereomers ergaben das Produkt **10**. Da der Defunktionalisierungsschritt mit Triethylsilan und Bortrifluorid für gewöhnlich nur Ausbeuten von rund 30 % liefert, wurde von Reese und Wu eine alternative Methode der Defunktionalisierung angewendet (Abb. 3C).^[22] Das durch Ringöffnung gebildete intermediäre Keton **12** wurde mit Natriumborhydrid zum Alkohol reduziert, und auf einem bekannten Weg mit Diisopropylazadicarboxylat und Triphenylphosphin in 55 % Gesamtausbeute zu **13** cyclisiert (vgl. auch ^[23,24]).

Eine stereoselektive Alternative bietet die Synthese ausgehend vom Ribonolacton **15** (Abb. 3D).^[25,26,27] Nach der Reaktion von **15** zum Lactol **16** und dessen Defunktionalisierung wurden die Benzylschutzgruppen mit Bortribromid abgespalten und die 3'- und 5'-Hydroxylgruppen 1,1,3,3-tetraisopropyl-disiloxy-geschützt. Anschließend wurde die 2'-OH-Funktion mit 1,1-Thiocarbonyldiimidazol umgesetzt und radikalisch mit Tributylzinnhydrid defunktionalisiert.

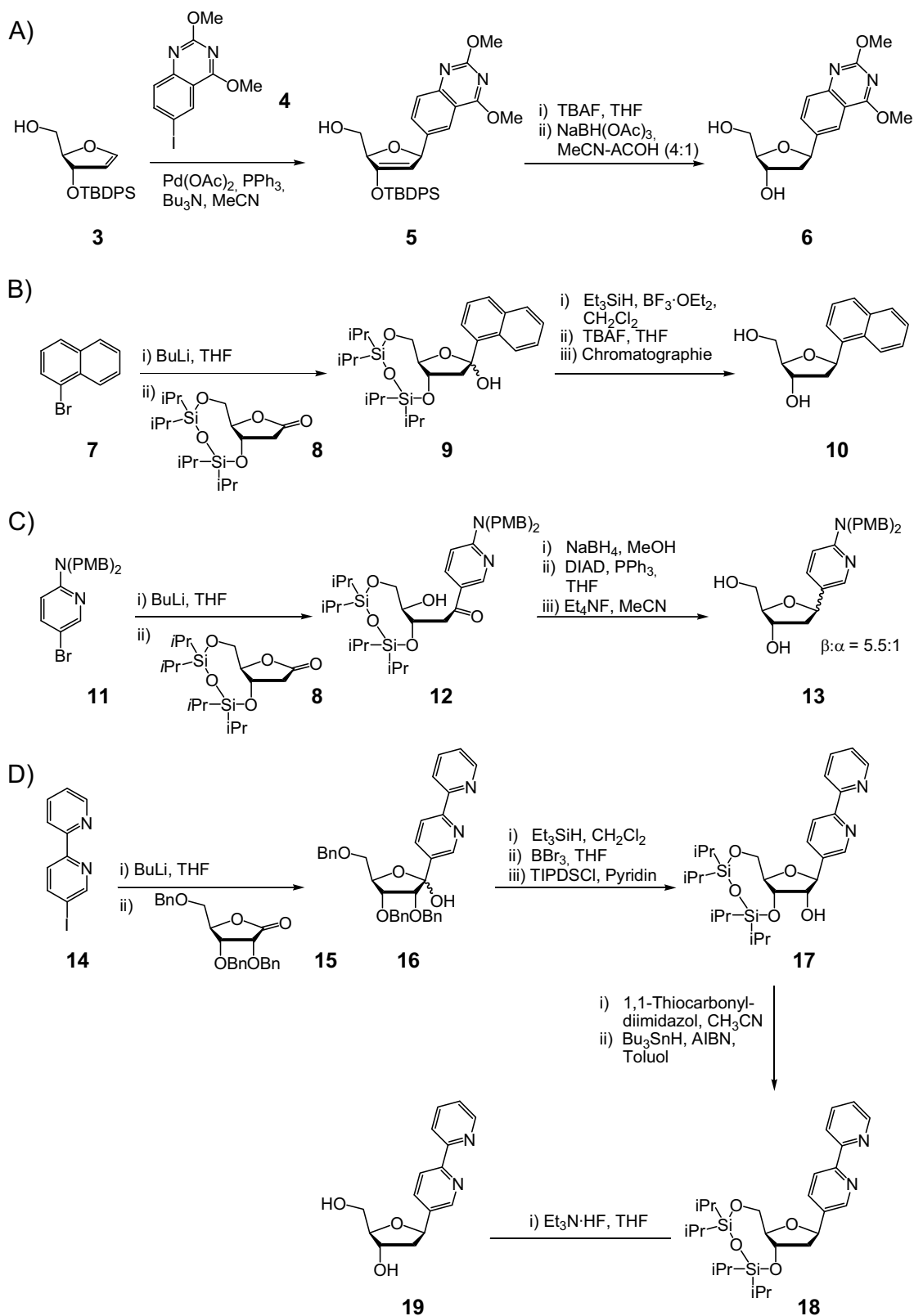


Abbildung 3: Beispiele für Synthesen von C-Nukleosiden. A) Heck-Kupplung.^[28] B) Kupplung von Organolithiumreagenz mit Desoxyribonolacton und nachfolgende Defunktionalisierung.^[21] C) Kupplung von Organolithiumreagenz mit Ribonolacton und nachfolgende Defunktionalisierung.^[27] D) Kupplung von Organolithiumreagenz mit Desoxyribonolacton mit nachfolgender Reduktion und Cyclisierung.^[22]

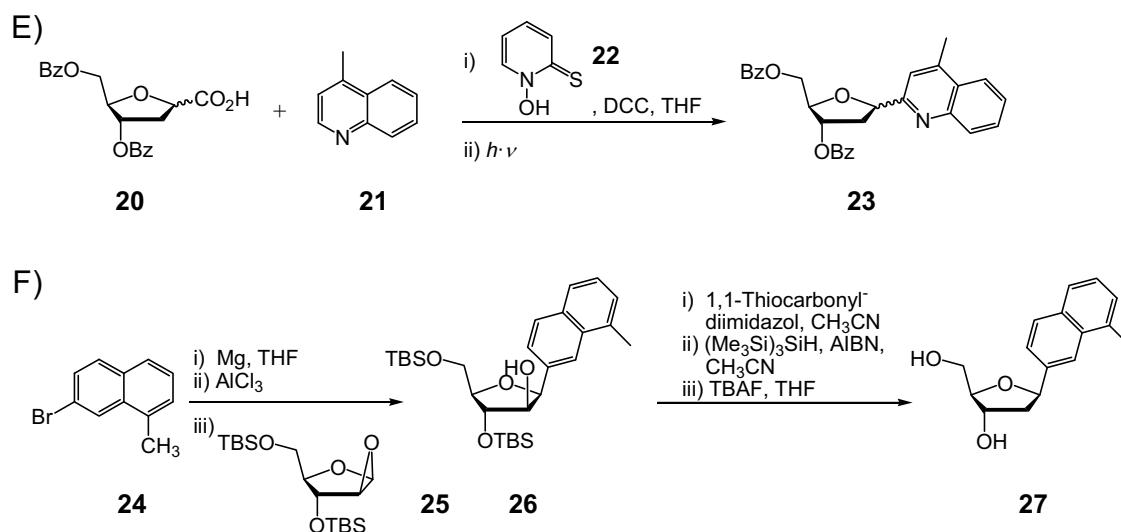


Abbildung 3 (Fortsetzung): Beispiele für Synthesen von C-Nukleosiden: E) Photochemisch aktivierte radikalische Synthese.^[29] F) Stereoselektive Reaktion von Organoaluminiumverbindungen mit 1,2-Anhydroarabinose und nachfolgender Defunktionalisierung.^[30]

Die Gesamtausbeute war auf diesem Weg allerdings sehr niedrig. Insbesondere die Abspaltung der Benzylschutzgruppen verlief nur mit mäßiger Ausbeute, da das C-Nukleosid ebenfalls ein Benzylether ist und folglich angegriffen werden kann.

Die Synthese von Aryl-C-Nukleosiden über anomere Radikale eignet sich speziell für die *ortho*-selektive Umsetzung von stickstoffhaltigen Heteroaromaten (Abb. 3E).^[29,31] Als Vorläufer konnten ein Glycosyltellurid oder ein Hydroxamat, das aus der Glycosylcarbonsäure **20** und *N*-Hydroxy-2-thiopyridon **22** gebildet wird, verwendet werden. Die Photolyse in Gegenwart von Säure führte zur Bildung der Radikale und der Umsetzung zu C-Nukleosiden wie **23** in bis zu 70 % Ausbeute. Eine *cis*-selektive Öffnung der 1,2-Anhydroarabinose **25** mit Organoaluminiumverbindungen wurde von Singh und Seitz beschrieben (Abb. 3F).^[30] Zum Entfernen der 2'-OH-Gruppe des Arabinosylintermediates **26** wurde mit 1,1-Thiocarbonyldiimidazol umgesetzt und anschließend radikalisch mit Tris-(trimethylsilyl)silan und AIBN defunktionalisiert. Die Silylentschützung mit Tetrabutylammoniumfluorid führte zum Nukleosid **27**. Dieses Verfahren bietet einen günstigen Zugang zu β -C-Nukleosiden in Fällen, bei denen die Diastereomerentrennung aufwendig oder unmöglich ist. Es ist nur die Verwendung von Aryl-Grignard-Reagenzien als Vorläufer der Organoaluminiumverbindungen beschrieben, was eine gewisse Einschränkung darstellt.

Für die Synthese von C-Glycosiden durch Umsetzung elektronenreicher Aromaten hat sich die Friedel-Crafts-Alkylierung bewährt, die mit mehreren Glycosyldonoren durchgeführt

werden konnte. Die oftmals mäßigen Ausbeuten werden durch die Prägnanz der Synthesen und die Verwendung unsubstituierter Aromaten anstelle von Iod- oder Bromarenen aufgewogen. Der erste Ansatz zur Synthese eines 2'-Desoxy-C-nukleosides **30** mittels Friedel-Crafts-Alkylierung ging von einem Benzyl-geschützten anomeren Tellurid **29** aus. Die Umsetzung gelang in Gegenwart von Bortrifluorid-Etherat als Katalysator in Dichlormethan mit Phenylsulfonylindol **28**, Benzothiophen und 1,3,5-Trimethoxybenzen.^[31] Eine erfolgreiche Abspaltung der Benzylschutzgruppen, bei der ein hohes Risiko der Öffnung des Zuckerringes besteht, wurde nicht berichtet. In weiteren, auf die Anwendung der C-Nukleoside ausgerichteten Arbeiten, wurden Bistoluoyl- oder Bisethoxycarbonyl-geschützte 1-O-Methyldesoxy-ribosederivate verwendet, die mit Zinntetrachlorid in Dichlormethan aktiviert wurden. Umgesetzt wurden unter anderem Perylen und geschützte Thiophenole.^[32,33] Wie Hainke und Seitz zeigten, kann durch den Einsatz des Zinntetrachlorid/Silbertrifluoracetat-Aktivatorpaares die Reaktivität gesteigert werden. So konnten auch elektronenärmere Aromaten wie 1-Methylnaphthalin umgesetzt werden.^[34] Shionoya *et al.* beschrieben die Umsetzung von Bisphenolen und Aminophenolen zu 2'-Desoxy-C-nukleosiden.^[35,36] So führte die Reaktion des TBS-geschützte Biphenols **31** mit dem Methoxyzucker **32**, katalysiert durch Zinntetrachlorid, zur Bildung des Produktes **33** in 44% Gesamtausbeute. Das β -Diastereomer **33 β** wurde durch die saure Epimerisierung des Produktes in das thermodynamische Gleichgewicht bevorzugt gebildet (Abb. 4).

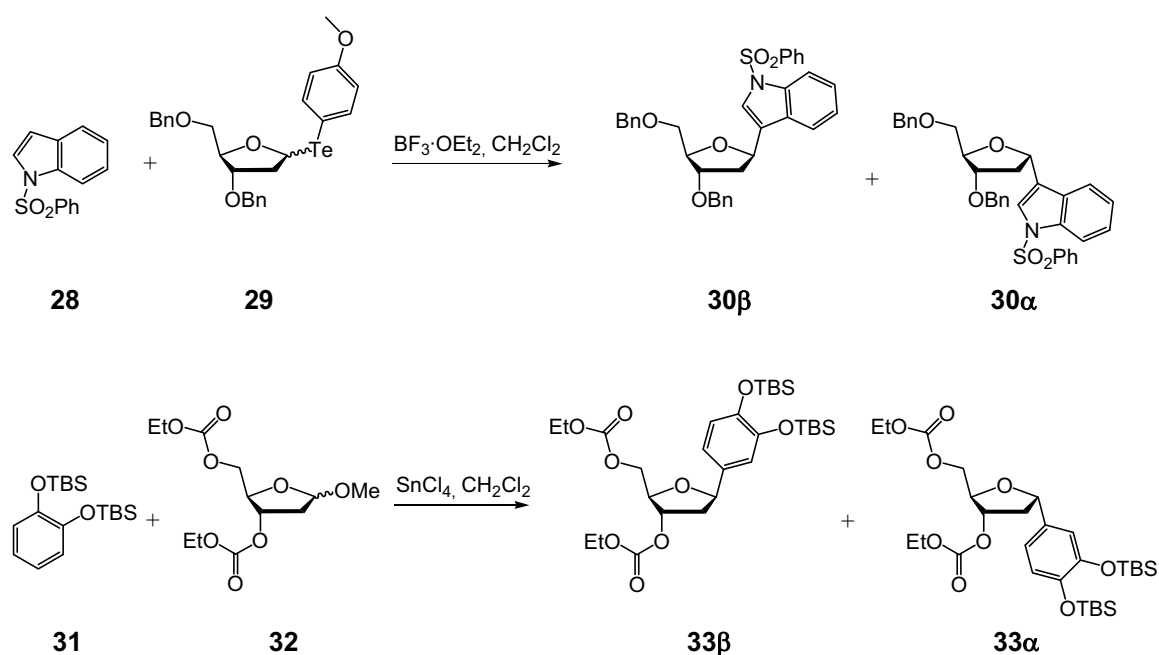


Abbildung 4: Synthesemethoden. Friedel-Crafts-Alkylierung.

Ein Weg der C-Glycosidsynthese, der verbreitet Anwendung gefunden hat, ist die Reaktion von Glycosylhalogeniden mit verschiedenen metallorganischen Reagenzien wie Organoaluminium-, Organozink-, Organomagnesium- und Organokupferverbindungen.^[15] Anomere Halozucker sind leicht verfügbare und preiswerte Substrate und die Umsetzungen funktionieren meist zuverlässig. Die effiziente Umsetzung des Desoxyribofuranosylchlorid-derivates **34** mit Diarylcadmium und -zinkverbindungen, anstelle der zuvor verwendeten Grignard-Reagenzien, berichteten Kool *et al.* erstmals 1995 (Abb. 5).^[37,38,39] Mit der Transmetallierung ging eine Verringerung der Basizität einher. Auf diese Weise wurden Nebenreaktionen vermieden und es konnten deutlich gesteigerte Ausbeuten von rund 70 % erhalten werden. Die im Überschuss gebildeten α -Anomere, wie **35 α** ($\alpha:\beta = 8:1 - 2:1$), wurden anschließend durch Reaktion mit Benzensulfonsäure, unter Zugabe katalytischer Mengen Wasser und Schwefelsäure, in Toluol epimerisiert. Entsprechend dem thermodynamischen Gleichgewicht bildeten sich dabei die β -Anomere **35 β** im Überschuss. Allerdings sank die Gesamtausbeute durch das Auftreten von Zersetzungsprodukten. Die Methode wurde vielfach als ein ökonomisches Verfahren für die Synthese einfacher Aryl-C-Nukleoside aufgegriffen.^[19,35,40,41,42,43,44] In den folgenden Jahren wurden verschiedene Verbesserungen vorgeschlagen. So führt die Epimerisierung mit Trifluoressigsäure (TFA) bzw. TFA/Benzensulfonsäure in Dichlormethan zu deutlich höheren Ausbeuten.^[45,46]

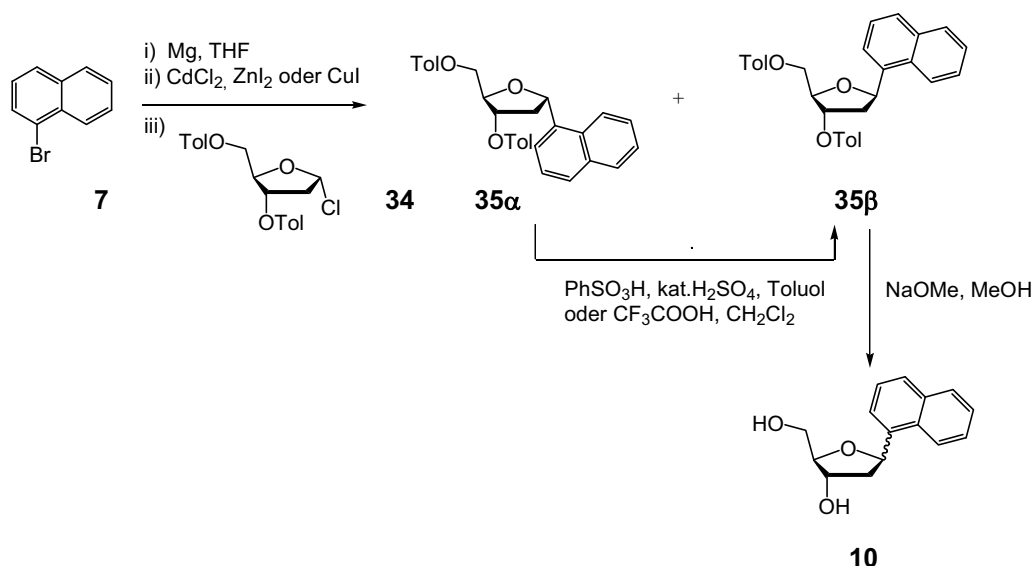


Abbildung 5: Reaktion von Chlorozucker **34** mit Organometallreagenzien und anschließende unter sauren Bedingungen durchgeführte Epimerisierung. Die gewünschte Verbindung **35 β** wurde mit Natriummethylat in Methanol zum freien Nukleosid **10** entschützt.

Seitz und Weinhold *et al.* berichteten 2003, dass die Kupplung von **34** mit ungiftigen Normant-Cupraten anstelle der cancerogenen Organocadmiumverbindungen unter analogen Reaktionsbedingungen zu höheren Ausbeuten führt.^[5] Wie Carell *et al.* darüber hinaus gezeigt haben, sind Gilman-Cuprate für die Synthese von 2'-Desoxyaryl-C-nukleosiden ebenfalls verwendbar. In beiden Fällen wurden jedoch wie zuvor überwiegend α -anomere Produkte gebildet, so dass eine Epimerisierung angeschossen werden musste. Diese kann jedoch nur durchgeführt werden, wenn sich am Aromaten keine säurelabilen Schutzgruppen befinden.^[47]

Eine Möglichkeit, Cuprat-basierte Glycosylierungen zu optimieren, stellt die Zugabe von BuN_4Br dar. Eine mit einem Normant-Cuprat durchgeführte Reaktion führte ausschließlich zur Bildung des α -anomeren C-Nukleosides.^[48] Folglich beeinflusst die Gegenwart von Halogenidionen in der Reaktionslösung den Reaktionsweg entweder durch eine Beschleunigung der Epimerisierungsprozesse des α -Chlorozuckers **34** zum reaktiveren β -Anomer, oder durch Veränderungen von Struktur und Reaktivität des Cuprates.

Bihovsky *et al.* hatten bereits Methyl- und Phenyl-Gilman-Cuprate in moderaten Ausbeuten an α -Glycopyranosylbromide gekuppelt, wobei im Gegensatz zur Umsetzung mit Organolithium- und Grignard-Reagenzien überwiegend die β -Anomere **37** unter Inversion der Konfiguration gebildet wurden (Abb. 6).^[49] Wahrscheinlich folgen die Umsetzungen mit Organometallverbindungen keinem $\text{S}_{\text{N}}2$ -artigen Mechanismus. Die β -selektive Umsetzung mit den Cupraten weist auf eine kinetische Bevorzugung, die durch sterische Wechselwirkungen mit der benachbarten 2-O-Alkyl- bzw. Acetylgruppe, tiefe Temperaturen und lange Reaktionszeiten bedingt ist, hin.

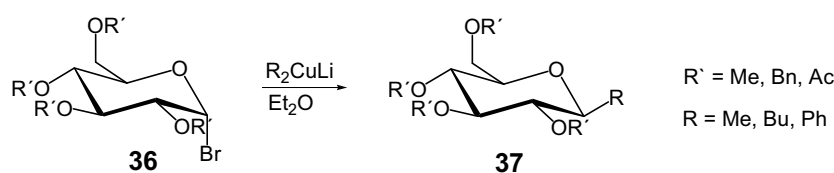


Abbildung 6: Cyclische α -Haloether reagieren mit Cupraten überwiegend unter Inversion der Konfiguration am anomeren Kohlenstoffatom.

2.2 Konzepte zur Nutzung C-nukleosidisch modifizierter Oligonukleotide

Es gibt eine Vielzahl von Ansätzen für die Nutzung von C-Nukleosiden als Basensurrogate in Oligonukleotiden. Benner *et al.* synthetisierten bereits 1990 Oligonukleotide mit alternativen Wasserstoffbrückenbindungsmustern.^[50] Um die chemische Stabilität einzelner Nukleobasen zu gewährleisten, benutzten sie unter anderem C-Nukleoside. Robinson und Hopkins *et al.* verwendeten 1995 ein unnatürliches Basenpaar **38** aus 2-Aminopurin und Nitroxid-modifiziertem Chinolin als Spinlabel um Dynamik und Flexibilität von DNA mittels EPR untersuchen zu können (Abb. 7).^[51] Zeitgleich kam von Kool *et al.* der Anstoß für die Nutzung unpolarer Nukleobasenanaloga, die in Größe und Form den natürlichen Nukleobasen gleichen, jedoch keine Wasserstoffbrücken zu einer Partnerbase ausbilden. Auf diese Weise war es möglich, die Gründe der Spezifität von DNA-Polymerasen und Stapelwechselwirkungen direkt in DNA anstatt in Modellsystemen zu untersuchen.^[39,52] Sie konnten zeigen, dass die Wasserstoffbrücken für die Erkennung durch verschiedene DNA-Polymerasen nicht essentiell sind. Obwohl das Difluortoluolnukleosid **1** bei der Basenpaarung gegenüber den natürlichen Nukleobasen generell destabilisierend wirkt und keine Selektivität gegenüber einer Nukleobase zeigt, wird 2'-Desoxyadenosin-5'-triphosphat ebenso selektiv gegenüber dem Difluortoluolnukleosid **1** in DNA eingebaut wie umgekehrt das Difluortoluolnukleosid-5'-triphosphat gegenüber Adenin.^[12,13] Sogar ein Pyrennukleosid besitzt gegenüber einem abasischen DNA-Baustein Eigenschaften eines Basenpaares, da das Pyrennukleosid-5'-triphosphat von Polymerasen erkannt und selektiv gegenüber einem Spacer-Baustein in DNA eingebaut wird.^[53,54] Die Gruppe um McLaughlin verwendete C-Nukleoside, bei den einzelne Wasserstoffbrücken eliminiert worden waren, um DNA-Ligand und DNA-Protein-Wechselwirkungen zu untersuchen.^[55,56,57]

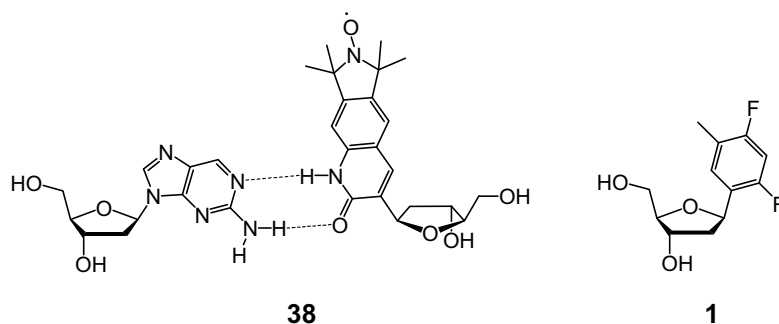


Abbildung 7: 2-Aminopurin-Chinolin-Basenpaar **38**. Difluortoluolnukleosid **1**.

Durch ein neues, zu den natürlichen Nukleobasen orthogonales Basenpaar können der Informationsgehalt der DNA vervielfacht und neue biotechnologische Anwendungen ermöglicht werden (Abb. 8).^[3] Um dieses Ziel zu erreichen, müssen zwei Hauptvoraussetzungen erfüllt werden: eine selektive und effektive Replikation und eine selektive Basenpaarung der DNA. Hydrophobe Wechselwirkungen sind für die Ausbildung eines einzelnen stabilen Basenpaares aus unpolaren Aromaten im Umfeld natürlicher Nukleobasen eine ausreichende Triebkraft. So bilden einige polyfluorierte Analoga Basenpaare aus, die an die Stabilität von A·T-Basenpaaren heranreichen.^[58] Ein hydrophobes Basenpaar ist stabiler als eine Basenpaarung zwischen einer hydrophoben Base und einer natürlichen Nukleobase. Die größte Herausforderung ist die Effizienz der durch Polymerasen katalysierten Replikation. Die Gruppe um Romesberg und weitere Arbeitsgruppen arbeiten an Systemen, in welchen die Replikation von künstlichen Basenpaaren mit hinreichender Geschwindigkeit und Selektivität abläuft. Verwendung finden dabei sowohl C-Nukleoside als auch einfache N-Nukleoside.^[59,60,61]

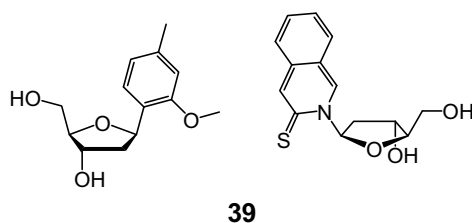


Abbildung 8: Ein unnatürliches Basenpaar von Romesberg *et al.* **39**.

Von großem Interesse ist die Platzierung von Metallionen im stabilen und chiralen Rückgrat der DNA, zu dem sie neue elektronische und katalytische Eigenschaften hinzufügen. Basenpaare, bei denen Wasserstoffbrücken durch metallische Brücken ersetzt wurden, könnten sich zum Beispiel durch die Konzentration an Metallionen schalten lassen oder als molekulare Drähte dienen und so neue Möglichkeiten für die DNA-Nanotechnologie und die enantioselektive Katalyse bieten.^[8] Das älteste Beispiel für ein monomeres C-Nukleosid-Dimer **40** geht auf Shionoya *et al.* zurück, die Phenylendiamin oder Aminophenole als Liganden für Pd²⁺-Ionen einsetzten (Abb. 9).^[26] Es gibt mehrere Systeme, in denen metallverbrückte C-nukleosidische Basenpaare in Oligonukleotide eingefügt wurden.^[8] Clever und Carrell zeigten zuletzt das kontrollierte Stapeln von 10 Mangan(II)-Kationen in Salen-Komplexen **41** in einer B-DNA-Helix (Abb. 9).^[47,62]

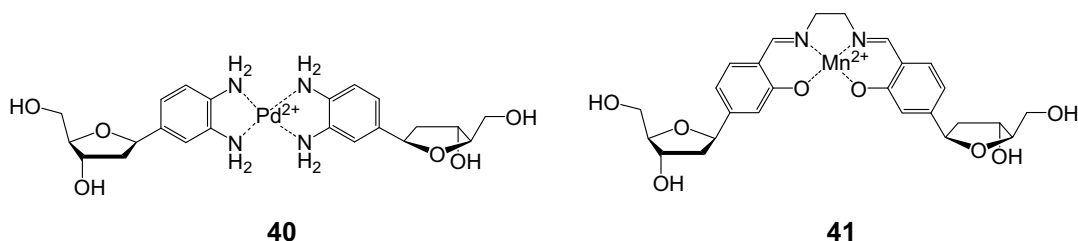


Abbildung 9: Monomeres Phenylendiammin-Basenpaar im Komplex mit Pd^{2+} **40**. Salen-Basenpaar in Komplex mit Mn^{3+} **41**.

Leumann *et al.* haben Biphenyl- und Bipyridylbasenpaare entwickelt, die auch ohne Metallverbrückung Interstrangwechselwirkungen eingehen (Abb. 10).^[27,63,64] In dem von ihnen als Reißverschlußerkennungsprinzip bezeichneten Ansatz legen sich die äußeren Aromatenringe übereinander und bewirken so über Basenstapel- und hydrophobe Wechselwirkungen die Stabilisierung des 'Basenpaares'. Insgesamt wurden sieben Biphenylpaare übereinander gestapelt und dabei ein Anstieg der Duplexstabilität erzielt, was nur aufgrund von Interstrangwechselwirkungen erreicht werden kann. Wie Leumann *et al.* vor kurzem gezeigt haben, stabilisieren Basenpaare aus Cyclohexylphenyl-Einheiten sogar deutlich stärker als Biphenylbasen.^[65]

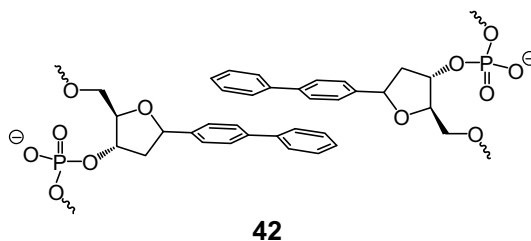


Abbildung 10: Biphenylbasenpaar **42**.

Excimere besitzen für verschiedene Anwendungen interessante Fluoreszenzeigenschaften wie große Stokes-Verschiebungen und lange Fluoreszenzlebensdauern.^[66] In der Nukleinsäure-diagnostik werden Fluorophore häufig einzeln oder wie Pyren als ein einzelnes Excimerbildendes Paar eingesetzt. Dabei werden die Fluorophore oft über lange Spacer an die Oligonukleotide gebunden. Es ist jedoch auch eine restriktivere Anbindung an die 2-Desoxy-D-ribose möglich. Die Struktur des DNA-Rückgrades bewirkt intensive Stapelwechselwirkungen zwischen den einzelnen Nukleobasen oder deren Analoga. Auf der Basis von C-Nukleosiden lassen sich kombinatorische Bibliotheken von oligomeren Fluorophoren erstellen, mit denen ausgewählte Eigenschaften gezielt optimiert werden können. So konnten mit zehn verschiedenen Fluorophoren 14000 neue tetramere Fluorophormoleküle synthetisiert

werden.^[67,68] Die Oligofluorophore zeichneten sich durch eine hohe Helligkeit und eine im Vergleich zu einzelnen Fluorophormolekülen hohe Empfindlichkeit gegenüber Fluoreszenzlöschern aus.^[69,70] So haben Häner *et al.* gezeigt, dass sich Perylenbisimide hervorragend als Löscher der Pyrenexcimer-Fluoreszenz eignen.^[71] Mit C-Nukleosiden als oligofluorophoren Reportergruppen könnte eine höhere Sensitivität in DNA-basierenden analytischen Fragestellungen erreicht werden.

Weitere vielfältige Verwendungsmöglichkeiten von C-Nukleosiden sind gezeigt worden. Natürliche Nukleobasen transportieren Elektronen über einen Lochtransport zwischen einzelnen Pyrimidineinheiten, besitzen aber für viele Anwendungen eine zu geringe Stabilität. Eine größere Stabilität versprechen C-Nukleoside. Daher wurde der innerhelikale Elektronentransfer durch ein Phenanthrennukleosidbasenpaar untersucht.^[72] Die Synthese einer photospaltbaren Nukleobase **43** wurde ebenfalls beschrieben (Abb. 11A). Solche Nukleobasen könnten, falls sie durch Polymerasen erkannt werden, Anwendung in *in vivo*-Experimenten finden.^[41] C-nukleosidisch gebundenes Coumarin **44** diene als Reportergruppe in zeitaufgelösten Fluoreszenzmessungen zur DNA-Dynamik (Abb. 11B).^[73] Einfache polycyclische C-Nukleoside erhöhen an endständiger Position die Schmelztemperatur von Duplexen.^[52] Verschiedene C-Nukleoside mit klassischen oder neuen Wasserstoffbrückenmustern können als Triplexbildner dienen. Bei anderen wurde, wie in dem exemplarisch abgebildeten Thymidinbaustein **45**, eine zusätzliche Phenylgruppe eingeführt. Sie ermöglichen die Synthese von Helices mit größeren Durchmessern und neuen Fluoreszenzeigenschaften (Abb. 11C).^[66,74] In Kapitel 2.4.3 und 2.4.4 wird die Verwendung von C-Nukleosiden als Inhibitoren von *M.TaqI* und UDG kurz erläutert.

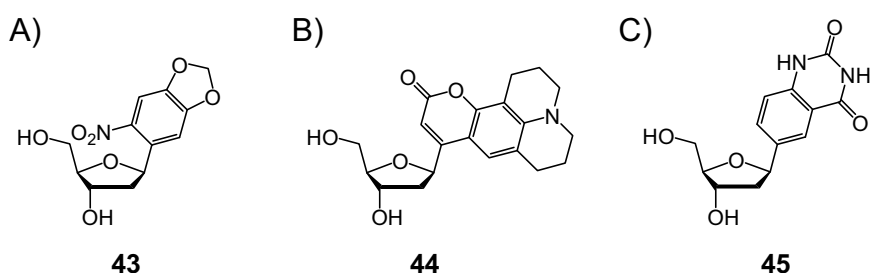


Abbildung 11: Photospaltbares Nukleosid **43**, Coumarinnukleosid **44** und erweitertes Nukleosid **45**.

2.3 Methylierung natürlicher DNA

Die DNA ist der Träger der Erbinformation, in ihr sind die Informationen für die Synthese aller Proteine und damit der lebenden Zelle enthalten. Allerdings sind zusätzliche Mechanismen notwendig, um die Regulation der Genexpression und den Erhalt der genomischen Stabilität zu gewährleisten. Erst die Kontrolle mittels Transkriptionsfaktoren, RNA-Interferenz, Chromatinmodifikationen und DNA-Methylierung erlaubt die selektive Abrufung genetischer Informationen und damit ein angepasstes, optimales Zusammenspiel zwischen der DNA und der Enzymmaschinerie einer Zelle. Offensichtlich ist die Bedeutung der Kontrollmechanismen bei höheren Organismen. Verschiedene Zelltypen eines Menschen erfüllen unterschiedliche Aufgaben. Sie haben einen unterschiedlichen Phänotyp obwohl sie die gleiche genetische Ausstattung besitzen, und sie geben ihre Eigenschaften an die nächste Zellgeneration weiter. Die Speicherung dieser epigenetischen Information ist eine der wichtigsten Aufgaben der DNA-Methylierung.

Die DNA-Methylierung wird von DNA-Methyltransferasen (DNA-Mtasen) durchgeführt, welche spezielle Sequenzen erkennen. Entsprechend ihrer Chemo- und Regioselektivität werden sie in *N*4-Cytosin-, *C*5-Cytosin- und *N*6-Adenin-DNA-Mtasen unterteilt (Abb. 12).^[9]

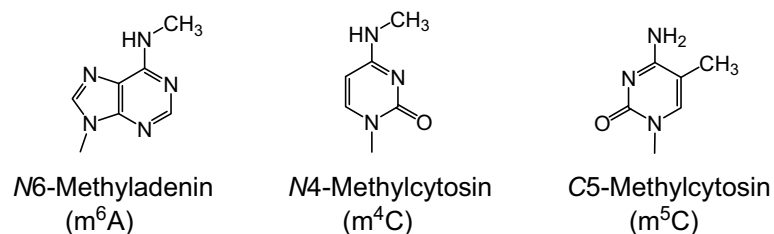


Abbildung 12: Methylierte Nukleobasen.

Methylierte DNA findet sich sowohl in vielen eukaryotischen als auch in prokaryotischen Organismen. Es besitzen jedoch nur Prokaryoten *N*6-Adenin-spezifischen DNA-Methyltransferasen.^[9] Für sie stellt die Methylierung der DNA an den spezifischen Erkennungssequenzen eine Art primitives Immunsystem dar. Viele DNA-Mtasen besitzen komplementäre, methylierungsempfindliche Restriktionsendonukleasen, welche die gleiche DNA-Sequenz erkennen. Diese können die zelleigene DNA nicht angreifen. Dringt virale DNA in die Zelle ein, so wird sie durch dieses Restriktions-Modifikations-System erkannt und abgebaut.^[9]

Während der DNA-Replikation wird zunächst hemimethylierte DNA synthetisiert, wodurch der neusynthetisierte DNA-Strang erkannt und die postreplikative Basenfehlpaarungsreparatur selektiv durchgeführt werden kann. Auf diese Weise ist ein Erhalt der genomischen Stabilität möglich. Zur Beeinflussung und Kontrolle des bakteriellen Zellzyklus werden verschiedene Genpromotoren nur von hemimethylierter DNA aktiviert. Es ist nachgewiesen worden, dass das SeqA-Protein den hemimethylierten Replikationsursprung bei *Escherichia coli* bindet, wodurch der Zellzyklus einer zeitlichen Steuerung unterworfen wird.^[75,76]

Die Methylierung eukaryotischer DNA ist eng mit der Regulation von Transkription und Replikation verknüpft.^[77,78] Beim Menschen liegen etwa 70 – 80% aller CG-Dinukleotide C5-Cytosin-methyliert vor. Dies entspricht etwa 1% aller Nukleobasen. In den Promoterregionen von mehr als der Hälfte der menschlichen Gene befinden sich Bereiche in denen besonders viele CG-Dinukleotide vorkommen und sogenannte CpG-Inseln bilden. Diese sind meist gering methyliert, unabhängig davon ob das Gen exprimiert wird. Die Methylierung der CpG-Inseln ist jedoch verantwortlich für die dauerhafte Abschaltung der Gene des inaktivierten X-Chromosoms und der genomischen Prägung (genomic imprinting) - der geschlechtsspezifischen Inaktivierung bestimmter Gene in den Keimzellen und der Zelldifferenzierung.^[79,80] In Krebszellen sind die Promoterregionen von Tumorsuppressorgenen häufig hypermethyliert. Eine Veränderung des Methylierungsmusters findet man in praktisch allen Tumoren.^[81]

2.3.1 DNA-Methyltransferasen und Infektionen

N6-Adenin-spezifische Methyltransferasen treten ausschließlich in Bakterien auf. Da sie kein bekanntes funktionales Homolog in höheren Organismen besitzen, sind sie potentielle Ziele für die Entwicklung von Antibiotika. Dam (DNA-Adenin-Methylase) ist eine unter γ -Proteobakterien und deren Bakteriophagen verbreitete Gruppe von DNA-Mtasen. Dam beeinflusst die Virulenz von verschiedenen bakteriellen Pathogenen.^[82] Das Enzym reguliert die Expression verschiedener Gene, die während einer Infektion aktiviert werden. Es wurde gezeigt, dass eine Dam-negative Mutante von *Salmonella typhimurium* ihre Pathogenität im Mausmodell verliert.^[83,84] Dam-negative Mutanten von *Haemophilus influenzae* sind unfähig menschliche Atemwegsepithelzellen und mikrovaskuläre Endothelzellen des Gehirns zu infizieren.^[85] Wie an weiteren Beispielen gezeigt werden konnte, ist Dam für einige Bakterien essentiell. Aber auch eine Dysregulation beeinträchtigt die Pathogenität, wodurch die

Möglichkeit der Entwicklung von Lebendimpfstoffen gegeben ist.^[86,87] *CcrM* Mtase (engl.: cell cycle regulated DNA Mtase) ist ein weit verbreitetes homologes Protein unter α -Proteobakterien, zu denen verschiedene menschliche Pathogene zählen. Die essentielle Funktion dieser DNA-Mtase wurde für *Brucella abortus*, *Rhizobium meliloti* und *Caulobacter Crescentus* nachgewiesen.^[88,89]

2.3.2 Prokaryotische DNA-Methyltransferasen

Es sind mehrere tausend bakterielle DNA-Methyltransferasen sequenziert worden, die über 300 verschiedene Erkennungssequenzen methylieren.^[90] Die Cokristallisation mit DNA gelang für *M.TaqI*^[91], *M.HhaI*^[92], *M.HaeIII*^[93], *E.coli* Dam^[94] und virale T4 Dam^[95]. Anhand von Kristallstrukturinformationen, kinetischen Studien und Mutageneseexperimenten konnte der Basenausklapp- und Methylierungsmechanismus von *M.TaqI*, *E.coli* Dam und *M.EcoRV* näher beleuchtet werden.^[94,96,97,98,99,100]

Die Bindung einer DNA-Mtase erfolgt zunächst an eine unspezifische DNA-Sequenz. Sie diffundiert an der DNA entlang bis sie ihre palindromische Erkennungssequenz identifiziert. Anschließend wird das Zielnukleotid aus der DNA-Helix herausdreht. Die dabei entstehende Lücke wird durch eine Verringerung des Durchmessers des DNA-Doppelstranges oder durch die Insertion von Proteinseitenketten stabilisiert. Die Nukleobase und der Cofaktor werden in räumlicher Nähe zueinander positioniert, so dass die Base methyliert werden kann. Alle DNA-Mtasen übertragen eine Methylgruppe von AdoMet **47** auf DNA, wobei methylierte DNA und *S*-Adenosyl-L-Homocystein (AdoHcy **3**) gebildet werden (Abb. 13). Als Abschluss wird der tertiäre Komplex entweder vollständig aufgelöst oder es werden, bevor die DNA-Mtase weiter entlang der DNA prozessiert, die Zielbase und der Cofaktor freigegeben.^[101]

Die Bindung einer DNA-Mtase an DNA mit dem umgebungssensitiven Fluorophor 2-Aminopurin anstelle der Zielbase führte charakteristischerweise zu einem Anstieg der Fluoreszenz. Dieser wird mit dem Herausdrehen des Fluorophors aus dem Duplex verbunden.^[98,102,103] Stopped-flow-kinetische Fluoreszenzmessungen an *E.coli* Dam mit DNA belegen einen Zwei-Stufen-Mechanismus.^[99] Im ersten Schritt erfolgt zunächst ein Auflösen der Basenstapelung und ein Herauslösen aus dem Duplex, einhergehend mit einem starken Fluoreszenzanstieg. Dieser ist sehr viel schneller als das Atmen der Nukleobasen in DNA, der durch thermischen Eigenbewegung und Stoßprozesse bedingten Bewegung der Nukleobasen in und aus der Doppelhelix, und wird aktiv katalysiert.^[104] Erst im darauffolgenden, sehr viel langsameren

Schritt wird die Base an einer Bindungsstelle im katalytischen Zentrum fixiert. Eine Stapelwechselwirkung zwischen der Zielbase und einem benachbarten Tyrosin-Rest bewirkt eine Reduktion der 2-Aminopurinfluoreszenz. Dieser zweite Schritt erfolgt nur in Gegenwart des Cofaktors AdoMet. Somit ist die Bildung eines stabilen inaktiven Komplexes unterbunden.^[105] Wie Weinhold und Jones *et al.* durch zeitaufgelöste Fluoreszenzmessungen in Kombination mit Acrylamid-Quenching-Titrationsen gezeigt haben, gibt es neben der in der Kristallstruktur der DNA-Mtasen *M.TaqI* und *M.HhaI* beobachteten Bindungsstelle im katalytischen Zentrum, Hinweise auf die Existenz einer weiteren polaren Bindungstasche.^[106,107]

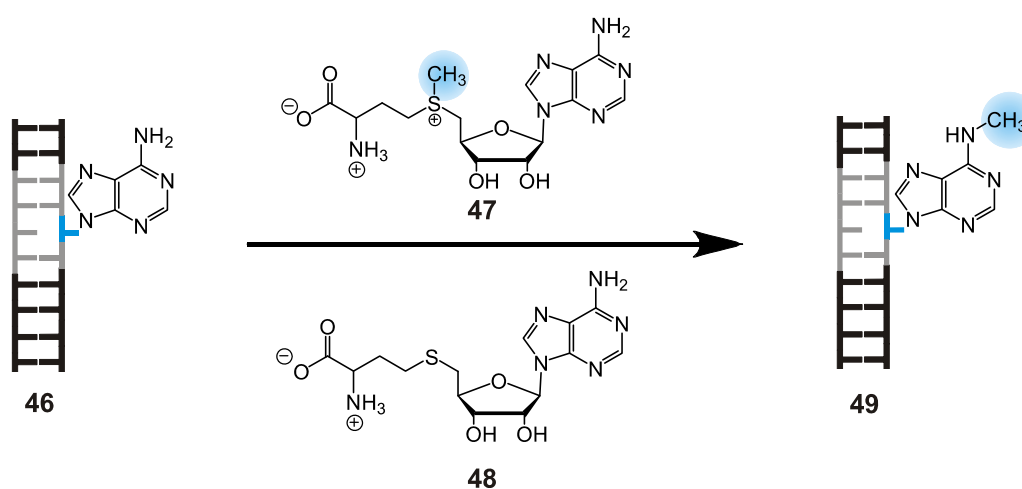


Abbildung 13: DNA-Methyltransferasen übertragen eine Methylgruppe (blau) von *S*-Adenosyl-L-Methionin **47** unter Bildung von *S*-Adenosyl-L-Homocystein **3** auf ein Zielnukleotid, welches innerhalb einer Erkennungssequenz (grau) liegt.

2.4 Inhibition von DNA-Methyltransferasen

Da die DNA-Methylierung bei vielen Organismen zu den zentralen Steuerungselementen des Zellstoffwechsels gehört, sind Mtase-inhibierende Therapeutika ein potentiell Ziel der Erforschung neuartiger Wirkkonzepte und die Entwicklung neuer Wirkstoffe. Die Hauptziele, die das Interesse wecken, sind die Krebstherapie und neuartige Antibiotika. DNA-Mtasen besitzen zwei wichtige Bindungsstellen, die für eine strukturgeleitete Entwicklung von Inhibitoren in Frage kommen, und deren natürliche Binder der Cofaktor AdoMet **47** und die Zielbase sind. Von AdoMet existieren verschiedene Analoga wie Adenosyl-L-ornithin (Sinefungin; **51**), AdoHcy **3**, oder 5'-[2-(amino)ethylthio]-5'-deoxyadenosin (AETA; **50**; Abb. 14).^[9] Da AdoMet **47** als universeller biochemischer Methylgruppendonor der Zelle dient, sind AdoMet-Analoga unspezifisch und toxisch und deshalb wenig geeignet. Die Ansätze zur Inhibition von DNA-Mtasen zielen daher auf die Bindungsstelle der Zielbase.

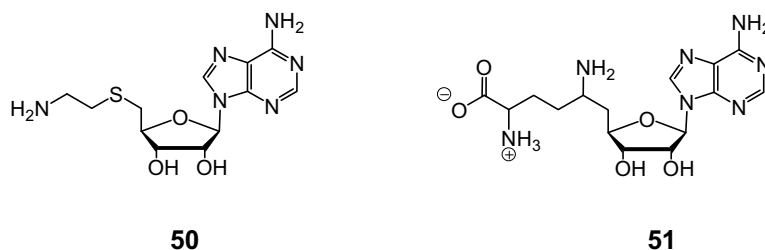


Abbildung 14: Strukturen der AdoMet **47**-Analoga AETA **50** und Sinefungin **51**.

2.4.1 Inhibition mit kleinen Molekülen

Der Mechanismus von C5-Cytosin-DNA-Mtasen (Abb. 15)^[9] ermöglicht die Entwicklung von Analoga, wie 5'-Azacytidin (VidazaTM; **56**, Abb. 16). Während der Methylierung durch C5-Cytosin-DNA-Mtasen erfolgt intermediär eine kovalente Bindung der Zielbase an Cystein (**52**). Die höhere Nukleophilie des Intermediates **53** erlaubt die Übertragung der Methylgruppe von AdoMet **47**. Anschließend wird basenkatalysiert Cystein eliminiert (**54**) und das C5-Methylcytosin (**55**) freigesetzt. Vidaza **56** wird in das Triphosphat überführt und während der Zellreplikation in genomische DNA eingebaut. Dort dient es als Selbstmordsubstrat, dass von den Dnmt's (Säugetier-DNA-Mtasen) als Cytidin erkannt wird und zu einer dauerhaften kovalenten Verbrückung der DNA mit dem Enzym führt, da die Eliminierung des Cysteins nicht in analoger Weise zu **54** erfolgt.^[108,109]

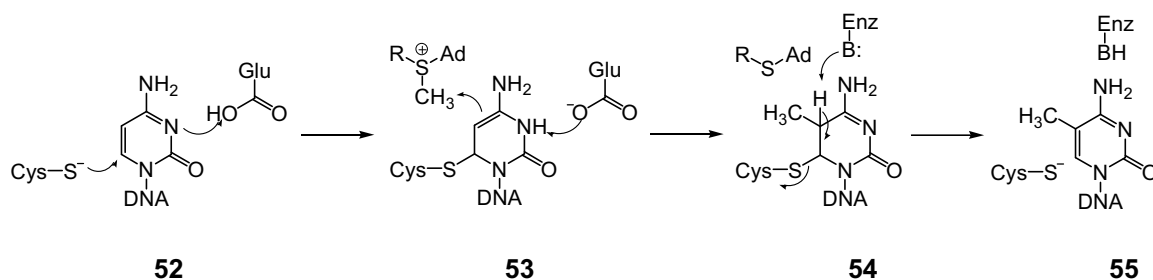


Abbildung 15: Methylierung von Cytosin durch C5-Cytosin-Mtasen.

Zellreparatur- und Apoptosemechanismen werden in Gang gesetzt und das kovalent gebundene Enzym wird abgebaut. Die hohe Zytotoxizität und die geringe chemische Stabilität schränken den Nutzen dieser Verbindung ein. Als Alternative wurden unter anderem 5-Aza-2'-desoxycytidin (Decitabin) **57** und Zebularin **58** untersucht (Abb. 16A).^[110,111] Anhand eines dreidimensionalen Modells der humanen DNA-Mtase 1 (DNMT1) wurde nach kompetitiven Inhibitoren gesucht. Die Verbindung *N*-Phthalyl-L-tryptophan (RG108; **61**) konnte als Leitstruktur identifiziert werden (Abb. 16B).^[112] Sie inhibiert *in vitro* und *in vivo* (in menschlichen Krebszelllinien) die DNA-Methylierung und reaktiviert Tumorsuppressorgene. Der IC₂₀-Wert (entsprechend einer 20 %igen Reduktion des Krebszellwachstums nach 3 Tagen) beträgt zwischen 20-40 µM.

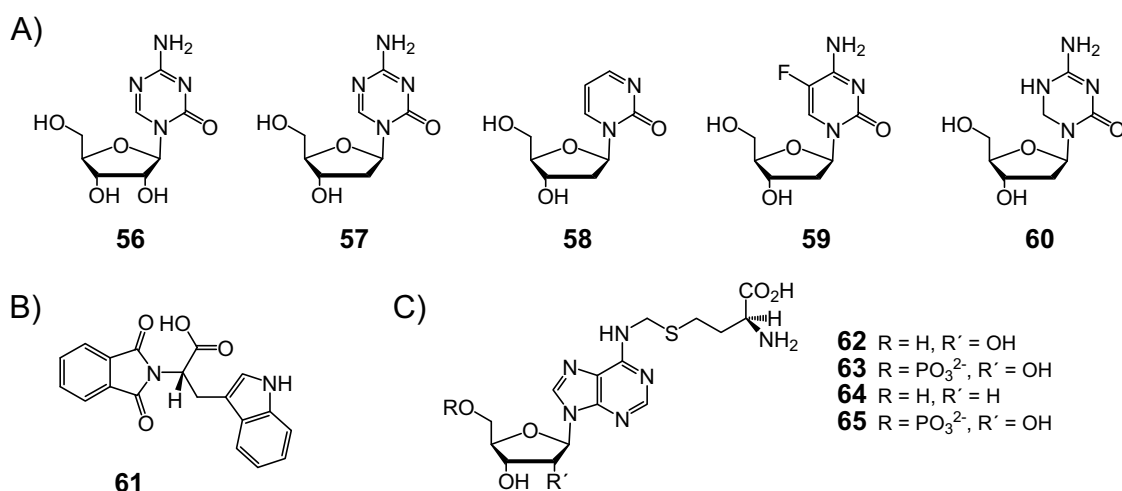


Abbildung 16: A) Suizidinhibitoren: 5-Azacytidin (**56**), 5-Aza-2'-desoxycytidin (**57**), Zebularin (**58**), 5-Fluor-2'-cytidin (**59**) und das Übergangszustandsanalog 5,6-Dihydro-5-aza-2'-desoxycytidin (**60**). B) RG108 (**61**). C) *B. CcrM*-Inhibitoren.

Zur Inhibierung von N6-Adenin-DNA-Mtasen gibt es bisher zwei Ansätze. Gegen die AdoMet- und Adenin-Bindungstaschen gerichtet ist eine kleine Bibliothek der Substanzen **62** – **65**, bestehend aus einer kovalent verbrückten Adenosin- und einer Homocysteineinheit. Durch die Kombination gelingt es, eine optimale Bindungsaffinität und Substratspezifität zu erreichen (Abb. 16C). In *in vitro* Experimenten inhibieren die Substrate die Aktivität von *Brucella abortus CcrM* (*B.CcrM*) mit Dissoziationskonstanten (K_D 's) zwischen 5 – 30 μM , während Adenosin und Homocystein erwartungsgemäß nicht binden. Der IC_{50} -Wert von 500 μM für die Inhibierung des Zellwachstums weist allerdings auf eine unzureichende Zellgängigkeit dieser Verbindungen hin.^[113]

Benkovic *et al.* haben eine Methode entwickelt, um mittels genetischer Codierung Bibliotheken von cyclischen Peptiden *in vivo* als Proteininhibitoren zu screenen. Die Anwendung auf *E.coli* Dam wurde durch die methylierungsempfindliche Tn5-Transposase erreicht. Die Übertragung der Transposon-DNA, welche die Sequenzbibliothek der cyclischen Peptide enthält, erfolgt, wenn die exprimierten cyclischen Peptide die DNA-Mtase blockieren und so die Transposase-Bindungsstelle unmethyliert bleibt. Nur die Übertragung des Transposons erlaubt auf einem selektiven Medium das Wachstum der Bakterienkulturen. Unter den $\sim 2.4 \cdot 10^7$ cyclischen 8mer-Peptiden, wurden 3 Peptide identifiziert, welche *in vitro* mit IC_{50} -Werten von 51 – 144 μM inhibieren.^[114]

2.4.2 DNA-basierende Inhibitoren

Die Entwicklung DNA-basierender Inhibitoren ist von grundlegendem Interesse, da bei ihnen die Bindung und Diskriminierung, wie es auch im katalytischen Prozess geschieht, von der Erkennungssequenz vermittelt wird. Durch diese zusätzliche Ebene der Diskriminierung ist es möglich, eine bestimmte Zielbase zu adressieren. Tatsächlich binden basenfehlgepaarte oder abasisch modifizierte Oligonukleotide mit Dissoziationskonstanten im nanomolaren Bereich an die C5-Cytosin-Mtase *M.HhaI*. Für die Bindung der DNA-Mtase wird nur eine Erkennungssequenz von weniger als zehn, meist vier Basenpaaren benötigt.^[90] Die minimal notwendigen Sequenzen von Oligonukleotid-basierenden DNA-Mtase-Inhibitoren sind daher kürzer als zum Beispiel antisense-Oligonukleotide.

Basierend auf der Erkenntnis, dass monomere Suizidinhibitoren eine mechanistisch bedingt hohe Toxizität und Mutagenität besitzen,^[115] wurden verschiedene der bekannten Inhibitoren

in synthetische Oligonukleotide eingebaut. Die Oligonukleotide mit 5-Fluor-2'-desoxycytidin **59** an der Zielbasenposition sind zu mechanistischen Studien an den C5-Cytosin-DNA-Mtasen *M.HaeIII* und *M.HhaI* verwendet worden, wodurch ein direkter Nachweis für den vorgeschlagenen Mechanismus der C5-Cytosin-DNA-Mtasen erbracht werden konnte (vgl. Kap. 2.6.1).^[116,117] Das Übergangszustandsanalog 5,6-Dihydro-5-aza-2'-desoxycytidin **60**, welches ein kompetitiver Binder ist, eignet sich in monomerer Form nicht als potenter Mtase-Inhibitor, da es nicht in das Triphosphat überführt und in DNA eingebaut wird. Eingebettet in ein Oligonukleotid hat sich jedoch **60** im Vergleich zu **59** in *in vitro*-Experimenten als der bessere Inhibitor einer Dnmt der Maus und von *M.HhaI* herausgestellt.^[118] Oligonukleotide mit 5-Aza-2'-desoxycytidin **56** als Zielbase binden wie **59** kovalent an die C5-Cytosin-DNA-Mtase *M.HhaI*.^[119] So konnten humane DNMT1 und verschiedenen bakterielle C5-Cytosin-DNA-Mtasen an 5-Aza-2'-desoxycytidin-modifizierte Oligonukleotide aneinander gebunden werden. HCT116-Krebszellen wurden mit den modifizierten Oligomeren transfiziert und es wurde gezeigt, dass deren Wachstum durch die Eliminierung von DNMT verlangsamt wird.^[120] Wie Shigdel und He im bisher simpelsten Ansatz zeigten, ist zur kovalenten Bindung kein Basensurrogat notwendig. Die Bindung des Oligonukleotides an die DNA-Mtase erfolgte ausgehend von einem Methylendisulfiddeoxyribosid **68**, indem eine Disulfidbrücke zu dem nukleophilen Cystein im aktiven Zentrums des Enzyms **67** gebildet wird. Die gemessene scheinbare Dissoziationskonstante (K_D) an *M.HhaI* und *M.SssI* betrug 20 μM (Abb. 17).^[121]

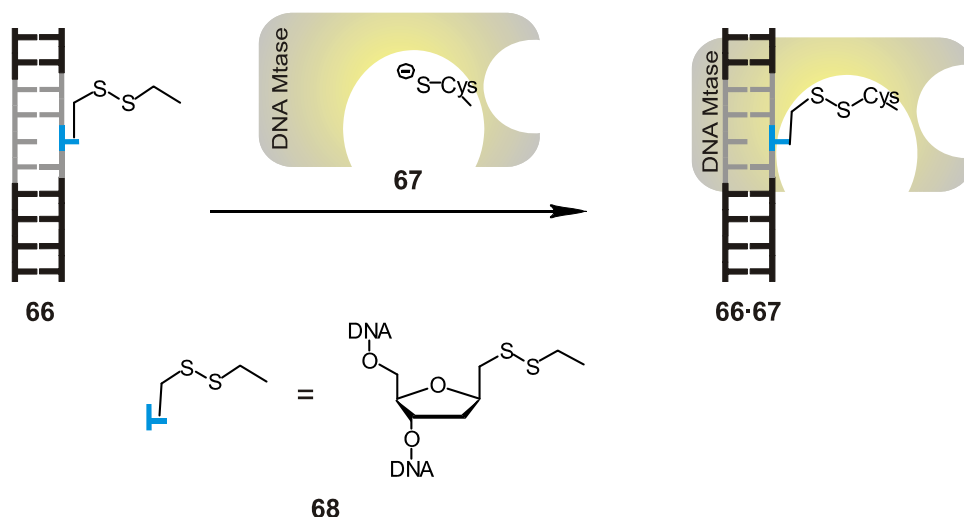


Abbildung 17: Inhibition von C5-Cytosin-DNA-Mtasen durch Verbrücken von Cystein an DNA mittels des Disulfidbausteins **68**.

2.4.3 Inhibitoren von Uracil-DNA-Glycosylase

Uracil-DNA-Glycosylase (UDG; **69**) erkennt und repariert 2'-Desoxyuridin, das Deaminierungsprodukt von 2'-Desoxycytidin, durch Entfernen der Nukleobase Uracil und Aktivierung weiterer Basen-Excisions-Reparatur-Mechanismen (Abb. 18). Homologe von UDG sind von Viren und Bakterien bis zu den Säugetieren weit verbreitet und sind potentielle Ziele sowohl für antivirale Wirkstoffe als auch Krebstherapeutika. UDG besitzt einen den DNA-Mtasen vergleichbaren Basenauskuppmechanismus. Eine Strategie für die Entwicklung von oligonukleotid-basierten Inhibitoren beruht auf der Destabilisierung des durch Hydrolyse von Uracil intermediär gebildeten Carbokations **72**. Oligonukleotide mit 1'-Cyano-2'-desoxyuridin **74** als Zielbase inhibieren UDG mit Dissoziationskonstanten (K_D 's) im niederen nanomolaren Bereich.^[122] Die Zielbasenanaloga 2'- β -Fluoro-2'-desoxyuridin **75** und methylenverbrücktes Uridin **76** inhibieren selektiv Herpes simplex Typ-1 UDG gegenüber humaner UDG.^[123]

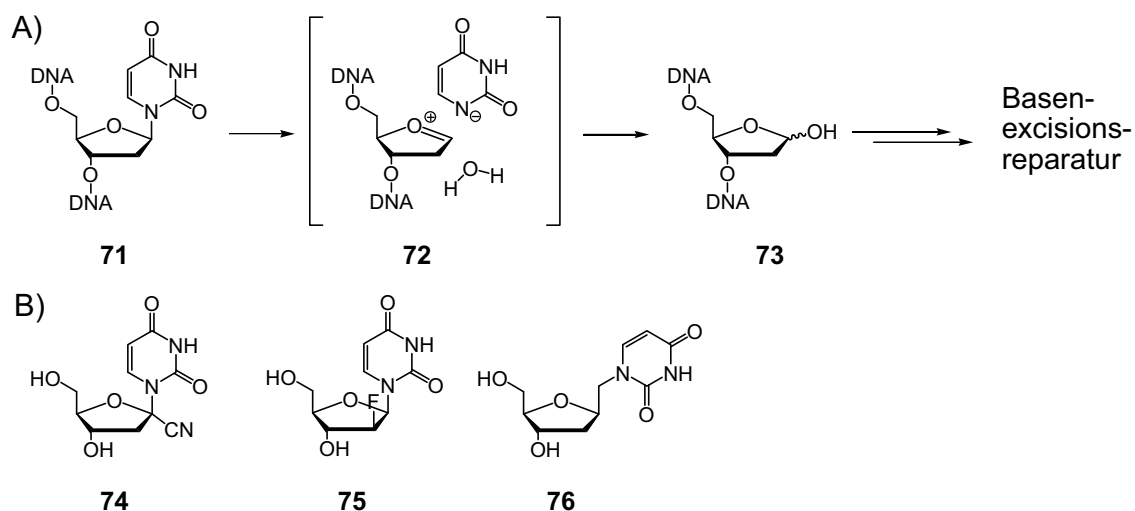


Abbildung 18: A) Mechanismus von Uracil-DNA-Glycosylase. B) Inhibitoren 1'-Cyano-2'-desoxyuridin **74**, 2'- β -Fluoro-2'-desoxyuridin **75** und methylenverbrücktes Desoxyuridin **76**.

Stivers *et al.* haben in einer mechanistischen Studie doppelt modifizierte Oligonukleotide **70a** – **d** eingesetzt (Abb. 19).^[124] Dabei verglichen sie die Bindungsaffinitäten der Oligonukleotide mit 2'- β -Fluoro-2'-desoxyuridin **75**, als Zielbasenanalogen und 1-Pyren **70a**, 4-Methylindol **70b**, Adenosin **70c** und 2,6-Diaminopurin **70d** als Partnerbasen an *E.coli* UDG. Der beste Binder war der 4-Methylindol-Duplex **70b**. Er besitzt im Vergleich zu Adenosin **70c** eine um den Faktor 1200 größere Bindungsaffinität. Das Fehlen der Wasserstoffbrücken erbrachte laut

den Autoren bei der Bindung des Enzyms jeweils einen Energiegewinn von 1 kcal/mol. Ein Großteil des Energiegewinns (3 kcal/mol) während der Bindung von UDG resultierte allerdings aus der größeren Flexibilität des unnatürlichen Basenpaars. Pyren, füllte den Raum eines vollständigen Basenpaars aus, stabilisierte aber nur minimal gegenüber Adenosin. Die Autoren erklärten dies mit der Größe und den intensiven Stapelwechselwirkungen des Pyrens. Diese sind die Ursache für dessen mangelnde Flexibilität und laufen den durch die UDG-Bindung bedingten, konformellen Änderungen der DNA-Struktur zuwider.^[124] Weinhold und Seitz *et al.* hingegen verwiesen auf die Stabilisierung in UDG durch das Einschleiben einer hydrophoben Seitenkette an die Position der Zielbase, die in einen sterischen Konflikt mit der Pyrengruppe gerät.^[5] Bei einer UDG-Variante, bei der die Seitenkette entfernt ist, wurde, in Übereinstimmung mit dieser Annahme, die katalytische Aktivität des Enzyms, die im Falle eines Uracil-Adenin-Basenpaares zum Teil verloren geht, durch Pyren wiederhergestellt. Stivers *et al.* bezeichneten dies als „pyrene-rescue effect“.^[125]

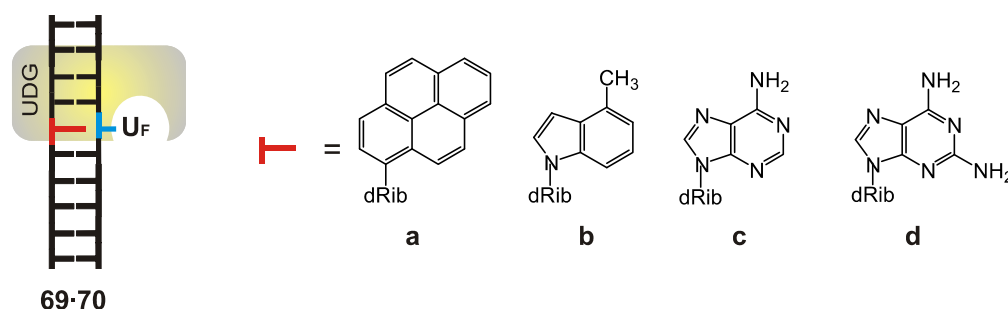


Abbildung 19: Inhibition von UDG 69 mit doppelmodifizierten Oligonukleotiden (70). U_F = 2'- β -Fluoro-2'-desoxyuridin 75.

2.4.4 Inhibitoren der DNA-Mtase *M.TaqI*

Weinhold und Seitz *et al.* haben sich die Inhibition von *M.TaqI* 77 und mechanistisch verwandter *N6*-Adenin-DNA-Mtasen mit *C*-nukleosidischen modifizierten Oligonukleotiden 78 zum Ziel gesetzt (Abb. 20).^[5] Entsprechend ihrer Arbeitshypothese sind für die Entwicklung von guten Inhibitoren mehrere Aspekte zu beachten. Auf Wasserstoffbrücken zwischen der Ziel- und ihrer Partnerbase, deren Aufbrechen Energie kostet, wurde verzichtet (vgl. Kap. 2.3). Die Zielbase wurde nicht modifiziert, um ihre Bindung im katalytischen Zentrum nicht zu schwächen. Die Partnerbase sollte hingegen die Zielbase sterisch aus dem DNA-Duplex verdrängen und die Interstrang-Stapelwechselwirkungen des DNA-Duplex nach dem Herausdrehen der Zielbase optimieren, so dass die Bindung der DNA-Mtase 77 an die

modifizierten Oligonukleotide im Vergleich zu unmodifizierter DNA mit einem möglichst großen Energiegewinn verbunden ist und höhere Bindungsaffinitäten erzielt werden. Pyren **77·78a** kann die energetisch nachteilige, scheinbare Leerstelle im Gegenstrang besonders gut ausfüllen, da es eine große hydrophobe Fläche besitzt, die in etwa der eines Basenpaares entspricht.^[53] Weiterhin wurde gezeigt, dass Biphenyl **77·78e** die Zielbase besonders gut entstapelt und so den Energieaufwand für das Herausdrehen der Zielbase aus dem Duplex minimiert.^[126]

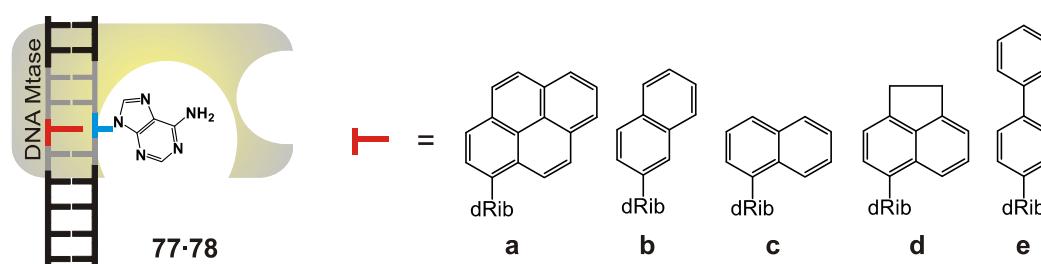


Abbildung 20: Inhibition von *N*6-Adenin-DNA-Mtase *M.TaqI* **77** mit modifizierten Oligonukleotiden **78a-e**. Die Partnerbase Thymin wurde durch 1-Pyrenyl-, 2-Naphthyl-, 1-Naphthyl-, 1-Acenaphthyl- und 4-Biphenyl-C-Nukleoside ersetzt (von rechts nach links).

Die Oligomere **78a-e** mit fünf verschiedenen C-Nukleosiden inhibierten *M.TaqI* **77** mit Dissoziationskonstanten (K_D 's) im nanomolaren Bereich und damit deutlich besser als ein Oligonukleotid mit einem A·T-Zielbasenpaar und Oligonukleotiden mit fehlgepaarten natürlichen Zielbasenpaaren, die trotz des veränderten Wasserstoffbrückenmusters keinen energetischen Vorteil realisieren konnten.^[5] Pyren-modifizierte DNA **78a** wurde anhand eines kompetitiven Bindungssays als bester Binder ermittelt. Dies führte Seitz und Weinhold *et al.* zu der Aussage, dass die Stabilisierung der Leerstelle im *M.TaqI*-DNA-Übergangskomplex für die höhere Bindungsaffinität C-nukleosidisch modifizierter DNA ein wichtiges Kriterium ist. Wie der Vergleich mit Ergebnissen, die in dieser Arbeit diskutiert werden, zeigt, war die Abstufung der Bindungsaffinitäten der C-Nukleoside auf die eingeschränkte Verwendbarkeit des ursprünglichen Essays zurückzuführen. Ein komplexeres Modell wird daher zur Erklärung der Stabilisierung des *M.TaqI*-DNA-Duplex benötigt.

3 Zielsetzung

Seitz und Weinhold *et al.* haben die Eignung von C-nukleosidisch modifizierten Oligonukleotiden als Binder an *M.TaqI* aufgezeigt (Abb. 20).^[5] Die Allgemeingültigkeit des Ansatzes für weitere DNA-Mtasen und die Annahmen über die Hintergründe der äußerst starken Bindung sind jedoch unbewiesen. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die Bereitstellung weiterer modifizierter Oligonukleotide, die sich als Binder an *M.TaqI* und *E.coli* Dam eignen und in Verbindung mit Kristallstrukturdaten tiefere Einblicke in den Mechanismus der Bindung gestatten. Die Nukleosidsurrogate sollten sich daher in Form, Größe, Flexibilität und elektronischen Eigenschaften von den bisher verwendeten Nukleosiden unterscheiden.

Für die Synthese der C-Nukleoside sollten die vorhandenen Methoden, insbesondere die der von Weinhold und Seitz *et al.* beschriebene Umsetzung von Grignard-basierenden Normant-Cupraten des Chlorozuckers **34**, genutzt und weiterentwickelt werden. Der größte Vorteil dieser Methode ist die hohe Ausbeute von meist 80 %. Da die Produkte jedoch überwiegend in α -anomerer Form vorliegen, sollten auch die Möglichkeiten und Grenzen der Umsetzung Lithium-basierender Cuprate (Gilman-Cuprate) untersucht und aufgezeigt werden. Eine weitere Methode zur Synthese von C-Nukleosiden aus elektronenreichen Aromaten und geeigneten Glycosyldonoren ist die Friedel-Crafts-Alkylierung. Sie sollte ebenfalls angewendet und, wenn möglich, ihr Leistungsspektrum erweitert werden. Im Anschluss an die Synthese und Charakterisierung der Oligonukleotide, sollten diese an die Arbeitsgruppe von Prof. Elmar Weinhold weitergereicht werden, um Bindungsstudien an den DNA-Mtasen *M.TaqI* und *E.coli* Dam durchzuführen.

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit war die Charakterisierung von Oligonukleotideinzelsträngen und -duplexen, die ein oder mehrere 1,1'-Binaphthyl-Chromophore als einen neuen Typus eines torsionsflexiblen Farbstoffes enthalten. Basensurrogate sind typischerweise planar, um die Basenstapelung und die hydrophoben Wechselwirkungen in der helikalen Anordnung der DNA-Basen zu erleichtern. Dieses Konstruktionsmuster wurde bei der Stapelung von Pyrenen, Perylenen und Phenanthrenen eingehend untersucht.^[32,127,128,129,130] Die Basenstapelung von nicht-planaren Einheiten in DNA ist jedoch bisher nicht beschrieben worden. Seitz *et al.* und Leumann *et al.* untersuchten die „Biphenyl-Base“ als einen an sich nicht-

planaren Polyzyklus.^[5,63,126,131] Jedoch reicht die durch die Hybridisierung gewonnene Energie der Basenstapelung aus, um die kleine Rotationsbarriere zu überwinden ($\Delta G \approx 10$ kJ/mol) und das Biphenyl im helikalen Basenstapel zu planarisieren.^[64] Interessanterweise sind mehrfach insertierte Biphenyl-Biphenyl-Paare in der Lage, DNA-Duplexe durch reisverschlussartige Interstranganordnung zu stabilisieren (vgl. Kap. 2.6). Das 1,1'-Binaphthylringsystem besteht aus zwei Naphthylringen, die im Mittel nahezu orthogonal zueinander stehen.^[132] In Lösung bei 293 K erfolgt die Drehung um die zentrale Bindung aufgrund der hohen Rotationsbarriere nur langsam ($\Delta G \approx 100$ kJ/mol).^[136] Oligonukleotide mit sich von Binaphthyl ableitenden C-Nukleosiden könnten zudem interessante Fluoreszenzeigenschaften besitzen (Abb. 21).^[133]

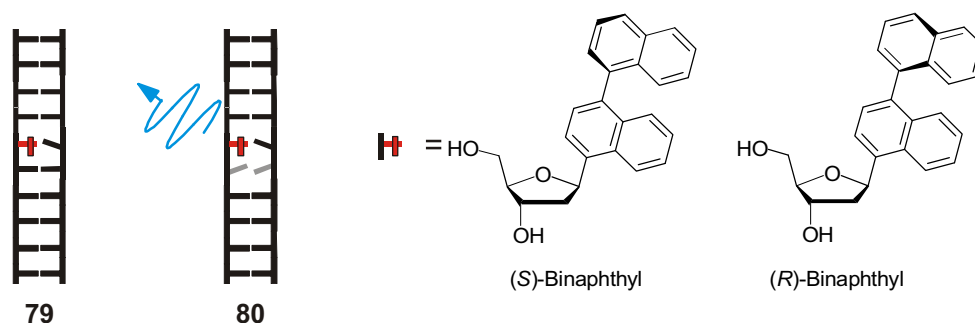


Abbildung 21: In einem Duplex wie **79** wird die Fluoreszenz von den Nachbarbasen charakteristischerweise gelöscht. Die Einführung einer Basenfehlpaarung in **80** kann zu einem Fluoreszenzanstieg führen.

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Auswahl und Darstellung von C-Nukleosiden

Die Aufgabenstellung erforderte die Auswahl einer Reihe von C-Nukleosiden, welche die Grundlage für die Optimierung der ausgewählten Synthesemethoden war und die zugleich für die Synthese von potenten oligonukleotidischen DNA-Mtase-Bindern geeignet waren. Ein wichtiges Kriterium für die Auswahl von, für die Bindungsstudien an *M.TaqI* und *E.coli* Dam geeigneten C-Nukleosiden, war, neben den Ergebnissen der Vorarbeiten durch Seitz und Weinhold *et al.*, die Betrachtung der Kristallstrukturen der beiden Enzyme im Komplex mit DNA.

4.1.1 Kristallstrukturen von *M.TaqI* und *E.coli* Dam

In Abb. 23 ist die Kristallstruktur des *M.TaqI*-DNA-Komplexes dargestellt. Die *N*6-Adenin-spezifische DNA-Mtase *M.TaqI* besitzt wie alle bakteriellen DNA-Mtasen eine große und eine kleine Domäne, die eine DNA-Bindungsspalte an der Grenzfläche zwischen den Domänen bilden. Die große Domäne enthält die Bindungsstellen für *S*-Adenosyl-L-methionin (AdoMet **47**) und die Zielbase. Die Zielbase ist aus dem DNA-Duplex herausgedreht und in der Nähe des Cofaktorananaloges 5'-[2-(amino)ethylthio]-5'-deoxyadenosin **50** positioniert.

Die Kristallstruktur von *E.coli* Dam mit DNA unterscheidet sich deutlich von *M.TaqI*. Da die verwaiste Partnerbase Thymin ebenfalls aus der Helix herausgedreht wurde, ist die Basenstapelung an dieser Stelle unterbrochen. Adenin liegt an einer Bindungsstelle auf der Oberfläche des Enzyms (Abb. 24).^[94] Die Autoren nehmen an, dass es sich um ein Intermediat handelt. Die Nukleobase befindet sich in dieser Position entweder vor dem Eintritt in das katalytische Zentrum oder die Bindungstasche wird erst nach der Methylierung mit AdoMet **47** besetzt. Adenin würde in diesem Fall an die Stelle von *N*6-Methyladenin treten, welches nach seiner Bildung aus dem katalytischen Zentrum freigesetzt wird.

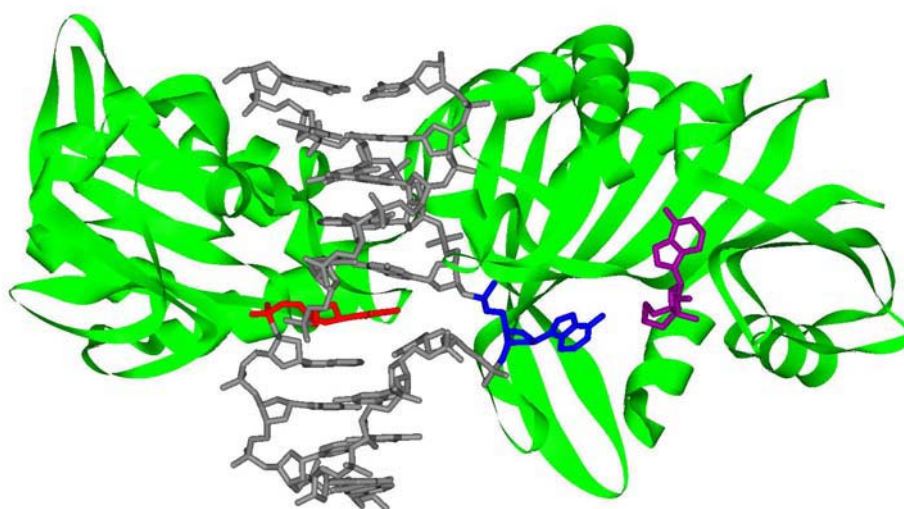


Abbildung 22: Ausschnitt aus der Kristallstruktur von *M.TaqI* (grün) im Komplex mit DNA (grau) inkl. Zielbase Adenosin (blau), Partnerbase (rot) und dem Cofaktoranalog 5'-[2-(amino)ethylthio]-5'-deoxyadenosin (**50**; violett). Perspektive aus Richtung der kleinen Furche des Oligonukleotides in Höhe der Modifikation. Die große Domäne befindet sich auf der perspektivisch rechten Seiten, die kleine Domäne auf der perspektivisch linken Seite.

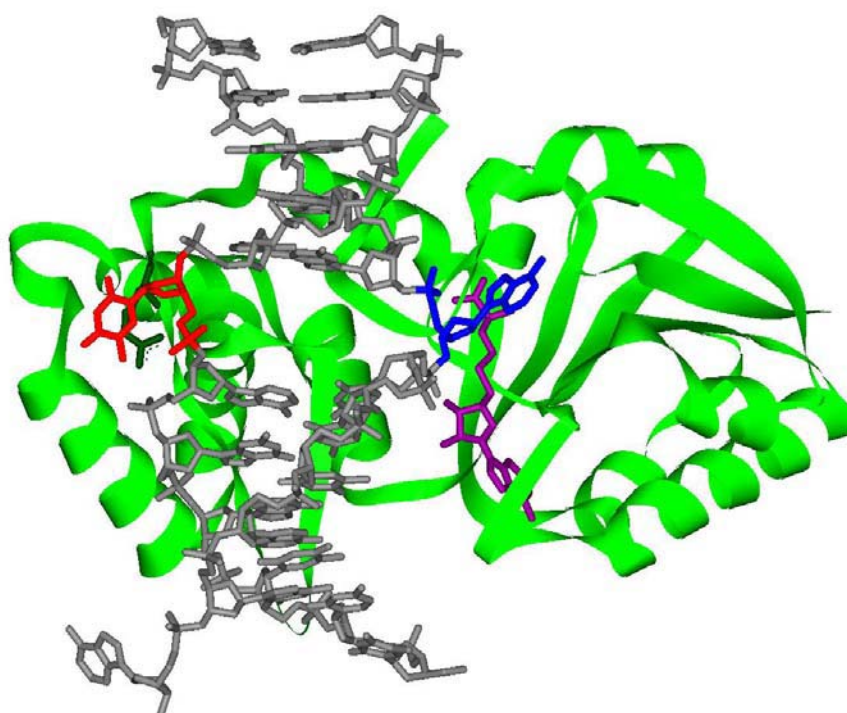


Abbildung 23: Ausschnitt aus der Kristallstruktur von *E.coli* Dam (grün) im Komplex mit DNA (grau) inkl. Zielbase Adenosin (blau), Partnerbase (rot) und AdoHcy (**3**; violett). Perspektive aus Richtung der kleinen Furche des Oligonukleotides.

Die Stabilisierung des Übergangszustandes und das Überbrücken der scheinbaren Leerstelle ist für die Funktion der DNA-Mtase notwendig. Im Bereich des Zielbase können verschiedene Mechanismen beobachtet werden, welche mit starken strukturellen Veränderungen der DNA-Helix einhergehen, und durch die jeweilige DNA-Mtase forciert werden (Abb. 24).^[91,94,95] Wechselwirkungen, der aus dem Duplex herausgedrehten Zielbase mit dem katalytischen Zentrum und strukturelle Veränderungen im DNA-Duplex, bewirken das Überbrücken der generierten Leerstelle und eine thermodynamische Kompensation der verloren gegangenen Wasserstoffbrücken. *M.TaqI* schiebt unter Kompression des DNA-Doppelstranges die Partnerbase Thymin in die Mitte der Doppelhelix. Dies bewirkt Interstrangstapelwechselwirkungen zwischen der verwaisten Base und dem Nachbarstrang (Abb. 24A). Andere DNA-Mtasen insertieren Proteinseitenketten in die DNA-Helix. Bei T4 Dam bildet Serin zwei Wasserstoffbrücken mit der Partnerbase Thymin aus. Gleichzeitig ist der Phenylring von Phenylalanin zwischen dem benachbarten A·T-Basenpaar und dem T·Serin-Paar eingeschoben, wodurch die Helix lokal aufgeweitet wird (Abb. 24B). Bei *E.coli* Dam insertieren Tyrosin und Asparagin-Seitenketten. Das Asparagin bildet mit der verwaisten Partnerbase Thymin Wasserstoffbrücken aus. Thymin kann aber auch, wie die Zielbase Adenin, aus der DNA-Helix in eine eigene Bindungstasche gedreht werden (Abb. 24C), wo es über eine π -Kation-Wechselwirkung mit Arginin stabilisiert wird.

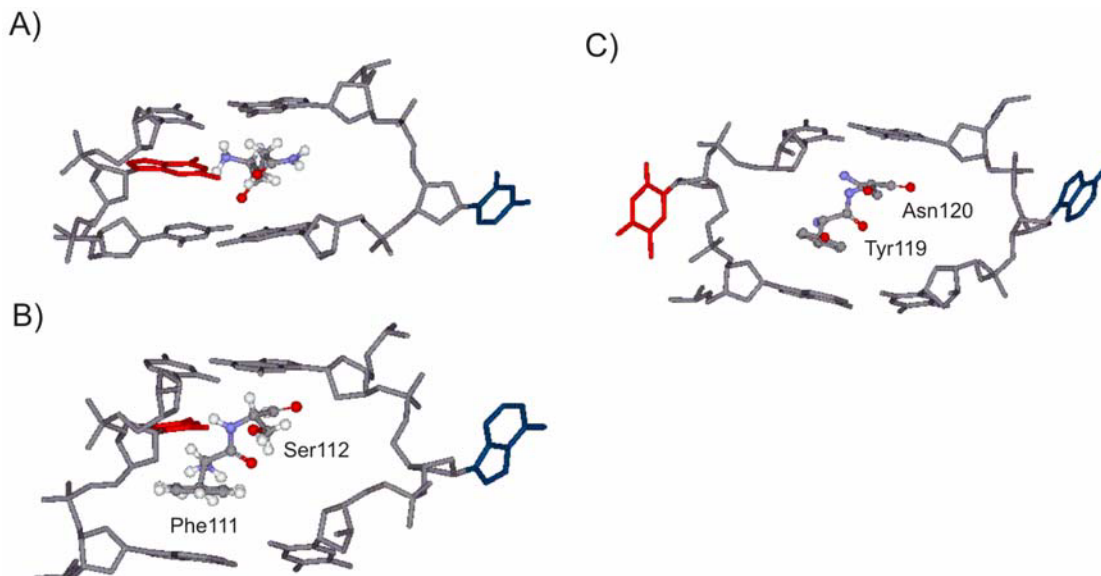


Abbildung 24: Ausschnitte aus Mtase-DNA-Komplexen mit der Zielbase (blau), der Partnerbase (rot) und interkalierenden Mtase-Seitenketten. A) *M.TaqI*.^[91] B) T4 Dam.^[95] C) *E. Coli* Dam.^[94]

4.1.2 Auswahl der Basensurrogate

Aus den von Seitz und Weinhold *et al.* bestimmten Bindungsdaten ließ sich für *M.TaqI* eine direkte Abhängigkeit der Stabilisierung von der Größe der hydrophoben Oberfläche ableiten.^[5] Aufgrund sterischer Ausschlusskriterien sollte eine hydrophoben Fläche, die den vorhandenen Raum in dem gebundenen Duplex vollständig ausfüllt, zu einer Verringerung der Flexibilität und zu einer Verdrängung des gegenüberliegenden DNA-Stranges oder zu Wechselwirkungen mit den Seitengruppen des Enzyms führen. Dies würde die Bindungsaffinität an die DNA-Mtase herabsetzen. Die Phenanthrenylnukleoside **82** und **87** sowie das 2-Anthracylnukleosid **90** besitzen eine geringere Oberfläche als das Pyrennukleosid **81** und schließen eine Lücke zwischen diesem und dem Naphthylnukleosid **27** (vgl. Kap. 2.4.4). Die Methylgruppen der Nukleoside **83** und **89** sollten in den Nukleosiden eine moderate Vergrößerung der hydrophoben Fläche induzieren, ohne eine Störung der Struktur zu bewirken. Das nichtplanare Binaphthylnukleosid **84** hingegen stört die Struktur der DNA erheblich und schiebt die äußere Naphthylgruppe in die große Furche, wo sie mit der DNA-Mtase konkurrieren müsste. Bei dem Phenyl-naphthylnukleosid **88** wird ein Ausdehnung in Richtung des Gegenstranges erwartet, wodurch die bei der *M.TaqI*-Bindung stattfindende Kompression des Doppelstranges nicht mehr möglich sein dürfte.^[91] Die Nukleoside **84** und **88** stellen daher zwei Beispiele für Surrogate dar, bei denen die Grenze der Bindung an *M.TaqI* erreicht werden kann.

Biphenyl kann um die zentrale Bindung rotieren und ist daher ein äußerst flexibler Aromat.^[64] Im Grundzustand stehen die beiden Phenylgruppen senkrecht zueinander. Die für die Planarisierung aufzubringende Energie beträgt allerdings weniger als 10 kJ/mol.^[134] Durch Substitution in *para*-, *meta*- oder *ortho*-Position lässt sich die Energiebarriere erhöhen, während die hydrophobe Fläche konstant bleibt. Da nicht zu erwarten ist, dass das *ortho*-Biphenylnukleosid **93** die optimale Position im Duplex ohne erhebliche Veränderungen im Rückgrat erreichen kann, ist zu erwarten, dass die äußere Phenylgruppe in der kleinen Furche verbleibt. Das 2-Fluorenylnukleosid **92** hingegen ist planarisiert und nicht flexibel, hat aber auch eine größere hydrophobe Oberfläche als Biphenyl.

Die Gruppe von elektronenreichen Aromaten als Binder an *E.coli* Dam orientiert sich an den Aminosäuren Tryptophan und Tyrosin, die in Proteinen häufig π -Kationenwechselwirkungen mit Arginin und positiv geladenen Liganden wie AdoMet **47** eingehen.^[135] Neben C-nukleo-

sidisch und heteroaromatisch verbrückten Indol- und Phenolnukleosiden **97** - **102** wurden auch ein Benzothiophennukleosid **103** und ein Thioanisolnukleosid **104** synthetisiert.

Die Auswahl der für die DNA-Mtase-Bindungsstudien verwendeten C-Nukleoside konnte in vier Gruppen eingeteilt werden, basierend auf einer 1-Naphthyl-, 2-Naphthyl- und einer Biphenylstruktur (Abb. 25A, B und C). Die vierte Gruppe bildeten die elektronenreichen Nukleoside (Abb. 25 D). Ein Sonderfall ist das 3-Tolylnukleosid **96**. Es ist kleiner als Thymidin, aber dennoch deutlich unpolarer und elektronenärmer.

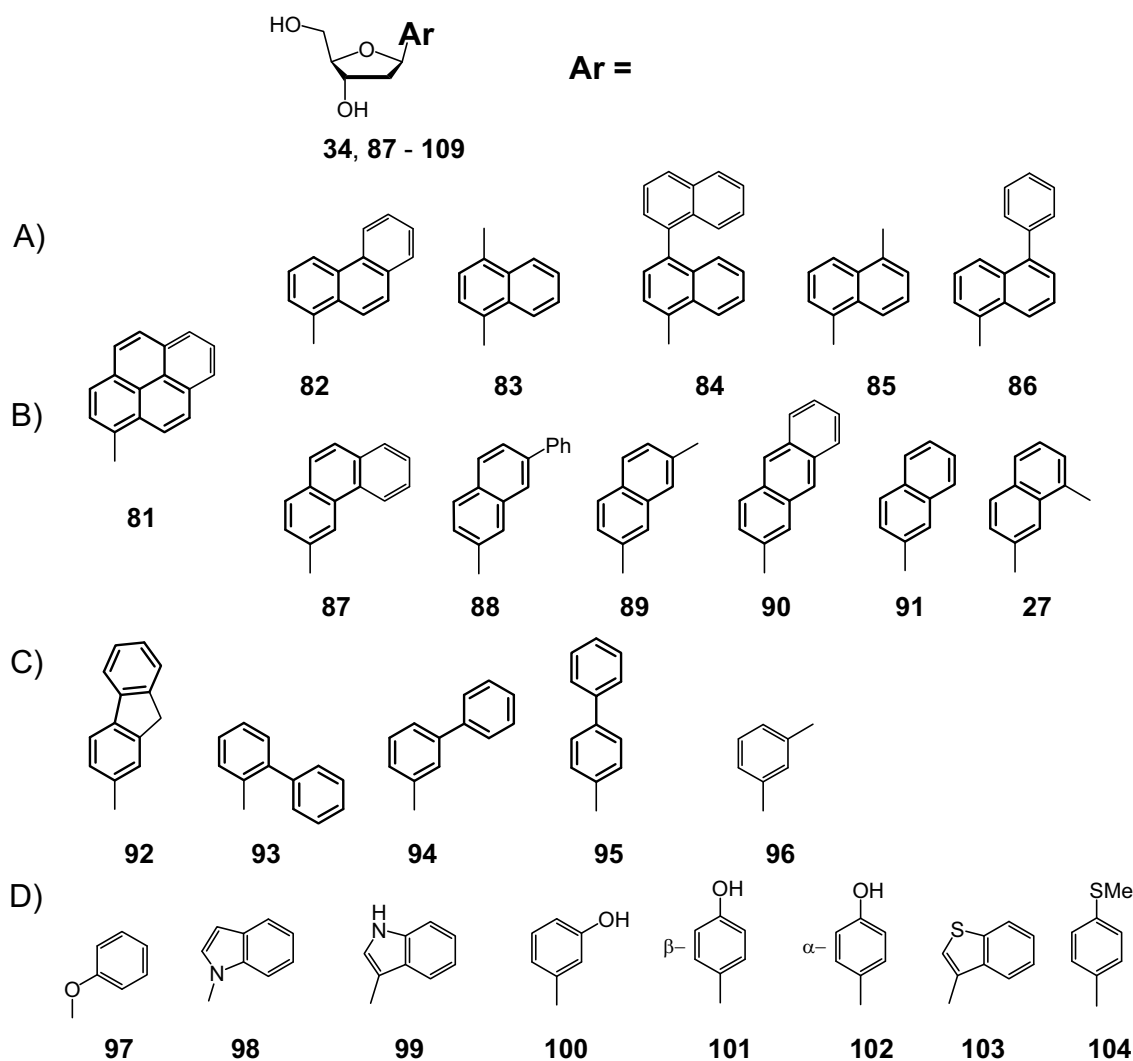


Abbildung 25: Vier Gruppen von C-Nukleosiden. Basierend auf A) 1-Naphthyl. B) 2-Naphthyl. C) Biphenyl. D) Elektronenreichen Nukleosiden. Die Grundstrukturen wurden hervorgehoben.

4.1.3 Aromatensynthese

Da die C-Nukleoside **81**, **83**, **92**, **99** und **101** – **104** hinreichend elektronenreich sind, erfolgte ihre Synthese über die Friedel-Crafts-Alkylierung. Die C-Nukleoside **82** – **91**, **93** – **96** und **100** – **102** wurden Cuprat-vermittelt an Hoffer's Chlorozucker **34** gekuppelt. Das Phenyloxonukleosid **97** und das Indol-Nukleosid **98** wurden durch nukleophile Substitution an Hoffer's Chlorozucker **34** dargestellt.

Nicht alle Aromaten sind in der benötigten Form kommerziell erhältlich und mussten nach zumeist bekannten Methoden synthetisiert werden. Die Aromaten 1-Bromphenanthren **108** und 3-Bromphenanthren **112** wurden durch Dr. Ishwar Singh hergestellt (Abb. 26A).^[136,137]

Der Aromat 4-Bromo-[1,1']-binaphthyl **114** wurde, analog zu den Binaphthylsynthesen von Scherf und Müllen, nach einer Suzuki-Kupplung aus 1,4-Dibromnaphthalin (**113**) und 1-Naphthylboronsäure unter Katalyse mit 2.5 mol% Pd(PPh₃)₄ erhalten.^[138] Bei dieser Reaktion ist zu beachten, dass ein kleiner Überschuss an 1-Naphthylboronsäure eingesetzt und die Menge des Katalysators entsprechend seiner Reaktivität minimiert werden musste, um eine möglichst vollständige Umsetzung von **113** zu **114** zu gewährleisten (Abb. 26B). Für die Synthese von 2-Brom-(7-phenyl)naphthalin **117** diente 2,7-Dinaphthol **115** als Ausgangsstoff. Die nukleophile Substitution nach Neenan und Whitesides mit Triphenylphosphoniumdibromid bei 200°C zu 2,7-Dibromnaphthalin und eine anschließende Suzuki-Kupplung mit Phenylboronsäure führte zum Produkt **117** (Abb. 26C).^[139,140] Nach der Vorschrift von Terfort und Brunner wurde 2-Brom-(7-methyl)naphthalin **121** dargestellt (Abb. 26D).^[141] Dabei wurde in einer Wittigreaktion das Phosphoniumsalz **119** mit 3-Brombenzaldehyd zu **120** umgesetzt. Die Entschützung und saure Aktivierung mit Bromwasserstoffsäure führte zur Ringbildung und nachfolgenden Aromatisierung. Die Synthese von 2-Iodanthracen **124** erfolgte in einer klassischen Sandmeyer-Reaktion aus 2-Aminoanthracen **123**.^[142] Es gibt eine weitere Syntheseariate von Coleman und Mortensen, die zu 2-Bromanthracen führt und die Verwendung des wahrscheinlich krebserregenden 2-Aminoanthracens **123** umgeht.^[143]

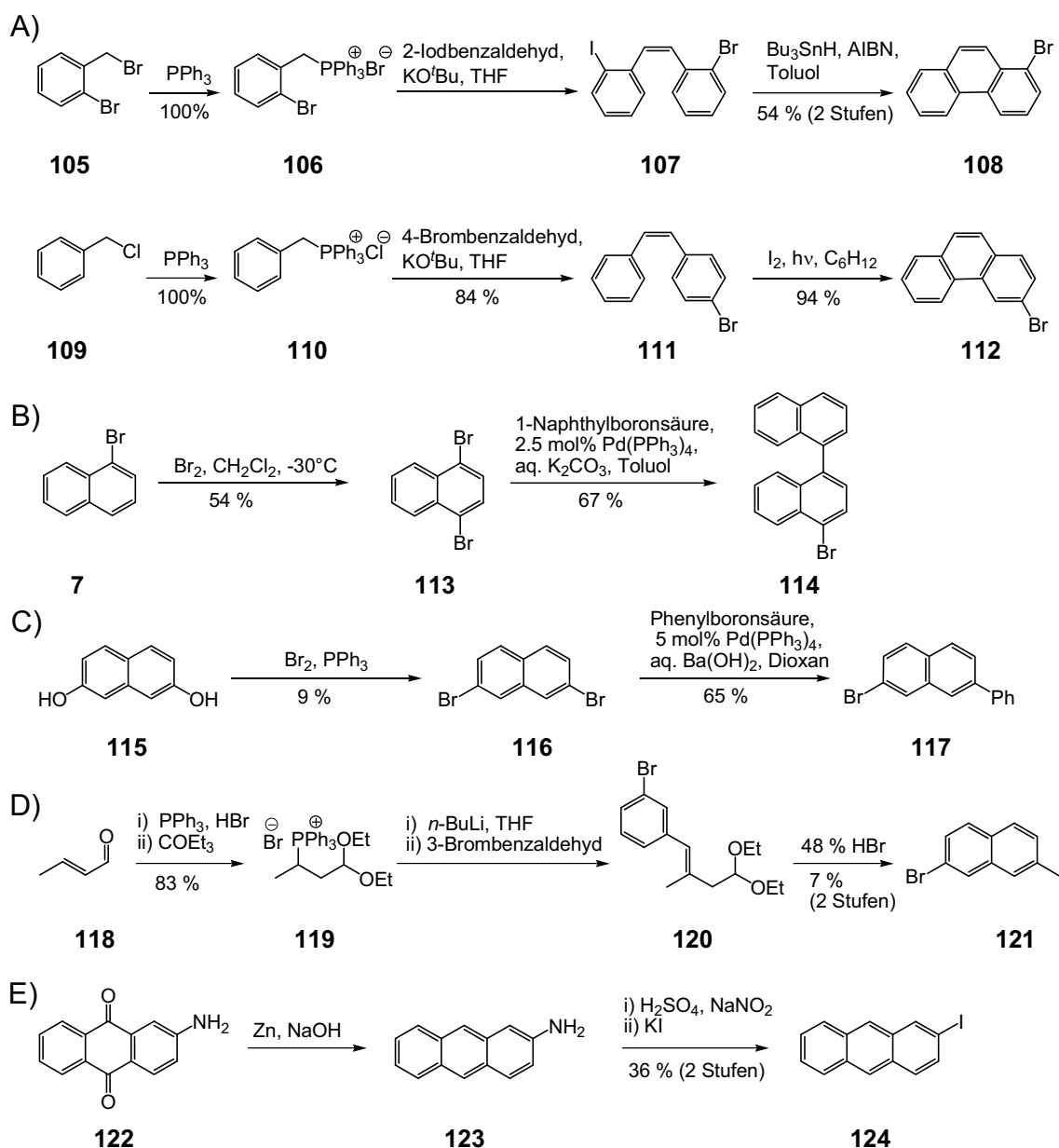


Abbildung 26: Synthesen von: A) 1-Bromphenanthren **108** und 3-Bromphenanthren **112**, B) 4-Brom-[1,1']-Binaphthyl **114**, C) 2-Brom(7-phenyl)naphthalin **117**, D) 2-Brom(7-methyl)naphthalin **121**, E) 2-Iodanthracen **124**.

An weiteren Aromaten mussten Schutzgruppen eingeführt werden. Die Bromphenole **125**, **127** und Phenol **129** wurden mit Triisopropylsilylchlorid (TIPSCl) unter basischen Bedingungen zu **126**, **128** und **130** geschützt (Abb. 27A).^[140] Diese Schutzgruppe wurde bereits von Clever und Carrell eingesetzt.^[47] Sie hat den Vorteil, dass ihre Basenlabilität ausreicht, um nach der Oligonukleotidsynthese von konzentrierter Ammoniumhydroxid-Lösung abgespalten zu werden, wodurch sich ein zusätzlicher Schritt erübrigt. Zugleich ist sie

aber stabil genug, um eine Monomer-Synthese zu ermöglichen. Tanaka und Shionoya haben die labilere TBS-Schutzgruppe sowohl unter Friedel-Crafts-Bedingungen als auch in der DNA-Synthese eingesetzt (Abb. 4).^[144] Für die Schützung von Indol **131** zu *N*-Benzoylindol **132** wurde Benzoylchlorid verwendet (Abb. 27B). Die Schutzgruppe ist nur für die Friedel-Crafts-Alkylierung erforderlich und wird während der Synthese des freien Nukleosides wieder abgespalten. Durch seine geringe Nukleophilie wird Indol in den darauffolgenden Schritten der DNA-Phosphoramiditsynthese nicht nukleophil angegriffen.^[145]

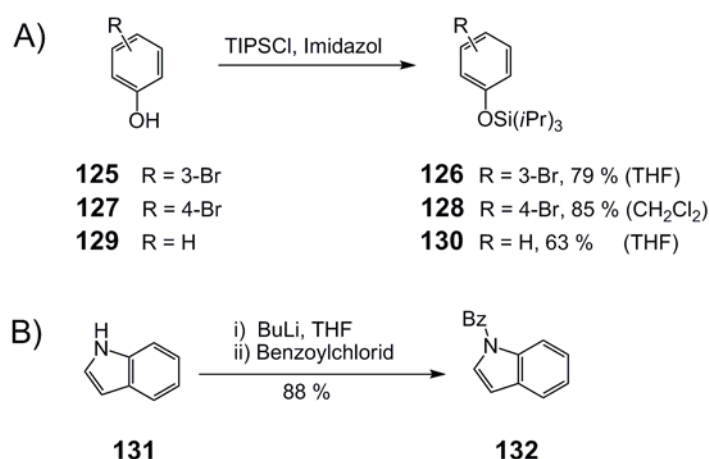


Abbildung 27: A) Synthesen der Triisopropylsilyl-geschützten Phenole **126**, **128** und **130**. B) Synthese von *N*-Benzoylindol **132**.

4.1.4 Friedel-Crafts-Alkylierung

Da das Projekt u. a. die Umsetzung elektronenreicher monocyclischer und polycyclischer Aromaten zum Ziel hatte, bot sich die Friedel-Crafts-Alkylierung als Synthesestrategie an, um einen schnellen Zugang zu verschiedenen *C*-Nukleosiden zu erhalten. Ziel war es, neben der Synthese von *C*-Nukleosiden, vor allem die synthetischen Grenzen dieser Methode auszuloten und durch Modifizierung der Reaktionsbedingungen in Richtung elektronenärmerer Aromaten wie z. B. Phenanthren zu verschieben.

Als Glycosyldonoren dienten der Methoxyzucker **133** und der Chlorozucker **34**. Diese wurden ausgehend von 2-Desoxy-D-ribose nach der Methode von Hoffer synthetisiert, wobei die in der Literatur beschriebene Variante der Erzeugung von chlorwasserstoff-haltigen Lösungen mit Acetylchlorid verwendet wurde (Abb. 28).^[146,147,148] Dazu wurde zunächst 2-Desoxy-D-ribose mit katalytischen Mengen HCl in Methanol zum Methylglycosid umgesetzt. Anschließend erfolgte die Synthese des Methoxyzuckers **133** durch Schützung der freien

Hydroxygruppen mit Toluoylsäurechlorid in Pyridin. Die Umsetzung mit Chlorwasserstoffsättigtem Eisessig führte zur Bildung eines weißen Pulvers **34**, welches als Feststoff aus der Lösung ausfällt. Anschließend wurde **34**, um den Rest der Säure zu entfernen, mit eiskaltem, trockenem Diethylether gewaschen und in einem Exsikkator über einem Gemisch aus Phosphorpentoxid und Natriumhydroxid gelagert. Das Produkt **34** liegt als Feststoff ausschließlich in α -anomer Form vor, in Lösung erfolgt jedoch langsame Epimerisierung und Zersetzung.

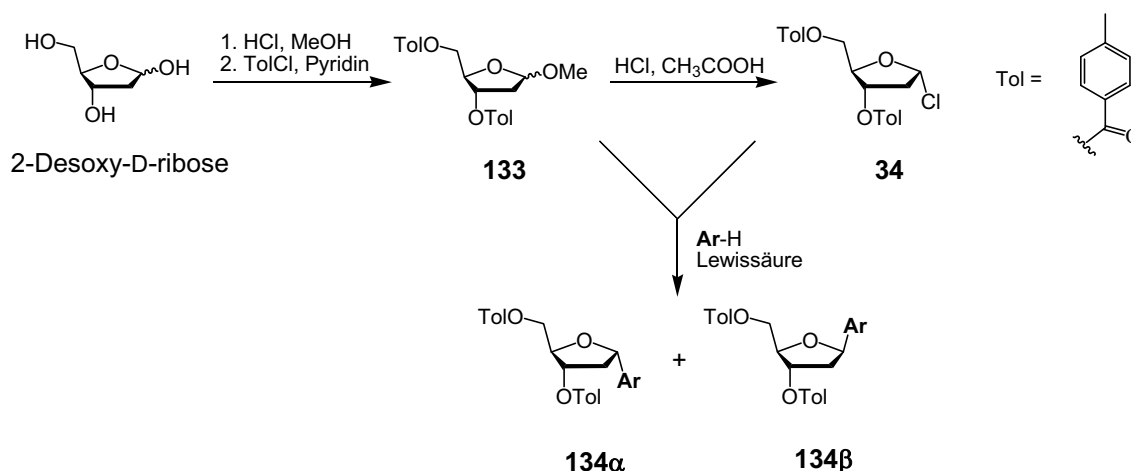


Abbildung 28: Syntheschema zur Darstellung von Hoffer's Chlorozucker **34** und Friedel-Crafts-Alkylierung. Als Ausgangsmaterial dienen entweder **133** oder **34**, die in Gegenwart einer Lewis-Säure mit Aromaten umgesetzt werden.

Zunächst wurde die Reaktivität des Pyrens bei der Umsetzung von Chlorozucker **34** untersucht. Pyren ist wegen seiner Fluoreszenzeigenschaften von besonderem Interesse und eignet sich aufgrund seiner hohen Reaktivität hervorragend für die Friedel-Crafts-Alkylierung. Die Umsetzung zum toluoyl-geschützten Nukleosidgemisch aus β -1',2'-Didesoxy-3',5'-di-O-toluoyl-1'-(1-pyrenyl)ribofuranose **134aβ** und α -1',2'-Didesoxy-3',5'-di-O-toluoyl-1'-(1-pyrenyl)ribofuranose **134aα** erfolgte in Gegenwart der milden Lewis-Säure Bortrifluorid-Etherat ($\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$) in CH_2Cl_2 bei 0°C in 54 % Ausbeute (Tab. 1). Die über ^1H -NMR bestimmte Selektivität, α -Anomer **134aα** und β -Anomer **134aβ** liegen im thermodynamischen Mischungsverhältnis vor, weist auf eine parallel zur Synthese ablaufende Epimerisierung des bereits gebildeten Produktes hin. Die Trennung der beiden Diastereomere ergab **134aβ** in 33 % Ausbeute. Da bei Friedel-Crafts-Alkylierungen das Lösungsmittel oftmals bedeutenden Einfluss auf das Ergebnis hat, wurde die Reaktion auch in Dichlorethan durchgeführt, was jedoch zu keiner Verbesserung führte. Alternativ kann auch Silbertetrafluoroborat als Aktivator eingesetzt werden. In CH_2Cl_2 verlief die Reaktion unter

sonst unveränderten Bedingungen deutlich langsamer. Bei vergleichbaren Ausbeuten führte dies zu einem etwas günstigeren Verhältnis der Anomere **134a β** und **134a α** von 75:25. In Dichlorethan wurde unter Verwendung von AgBF_4 bevorzugt (2*R*,3*S*)-2-Hydroxy-5,5-dipyrenylpentyl-1,3-ditoluat **135** in 22 % Ausbeute gebildet, welches das Produkt einer zweiten Friedel-Crafts-Alkylierung darstellt. Das Anomerengemisch **134a $\alpha\beta$** konnte unter diesen Bedingungen nur in 9 % Ausbeute isoliert werden.

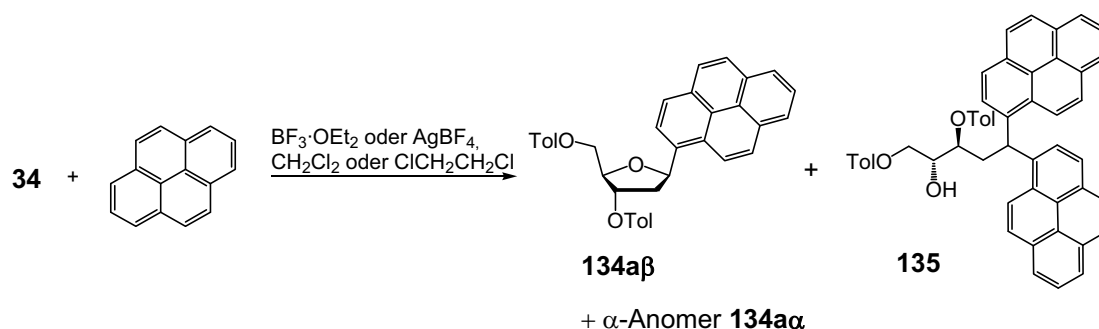


Abbildung 29: Synthese des Pyrennukleosides **134a** mit Chlorozucker **34**. Nebenprodukt **135** entsteht unter ungünstigen Reaktionsbedingungen bevorzugt.

Die Synthese von C-Nukleosiden durch Umsetzung von stabileren Methoxyzuckern wie **133** mit dem acideren Zinntetrachlorid (SnCl_4) als Katalysator ist beschrieben worden.^[35,36] Pyren konnte nach Optimierung der SnCl_4 -Äquivalente und der Reaktionstemperatur im Vergleich zu den mit $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ katalysierten Reaktionen sogar in etwas besseren Ausbeuten von 61 % zu **134a $\alpha\beta$** umgesetzt werden. Als nachteilig erwiesen sich bei diesem Weg die ähnlichen Retentionsfaktoren des Methoxyzuckers **133** und des C-Nukleosides, die entweder eine sehr sorgfältige Trennung oder eine vollständige Umsetzung von **133** notwendig machten, was aufgrund parallel ablaufender Zersetzungsprozesse nicht mit optimalen Gesamtausbeuten vereinbar war.

Da sich die Synthesestrategie im Falle des Pyrens als flexibel und nützlich erwiesen hat, wurde sie auf weitere Aromaten übertragen (Abb. 30). Die unterschiedliche Reaktivität einzelner Aromaten bei der Friedel-Crafts-Alkylierung hat einen großen Einfluss auf die Ausbeute. Wichtige Größen sind Temperatur, Lösungsmittel, Reaktionszeit, Konzentration der Reaktanden, Katalysator, Katalysatorkonzentration, Ansatzgröße sowie zusätzliche Additive. Demgegenüber würde die vollständige Optimierung der Reaktionsbedingungen eine erhebliche Zeit in Anspruch nehmen. Der Aufwand für die Optimierung wurde daher nach subjektivem Ermessen so gering wie möglich gehalten.

Tabelle 1: Ergebnisse der Umsetzung von Pyren.

Donor	Promoter (Äq.)	Lösungsmittel	Ausbeute 134aαβ	Verhältnis 134aβ: 134aα ^{a)}
34	BF ₃ ·OEt ₂ (1.7)	CH ₂ Cl ₂	54 %	70:30
34	BF ₃ ·OEt ₂ (1.7)	ClCH ₂ CH ₂ Cl	52 %	70:30
34	AgBF ₄ (1.1)	CH ₂ Cl ₂	57 %	75:25
34	AgBF ₄ (1.1)	ClCH ₂ CH ₂ Cl	9 %	76:24
133	SnCl ₄ (0.51) ^{b)}	ClCH ₂ CH ₂ Cl	61 %	75:25
133	SnCl ₄ (2.3) ^{c)}	ClCH ₂ CH ₂ Cl	56 %	70:30

^{a)} bestimmt über ¹H-NMR-Spektroskopie. ^{b)} 0°C. ^{c)} –15°C.

Die elektronenreichen Aromaten Trisopropylsilylphenol **130**, *N*-Benzoylindol **132** und *N*-Phenylsulfonylindol **28** konnten, analog zu Pyren mit Chlorozucker **34** unter Aktivierung mit BF₃·OEt₂ in Ausbeuten von 20 %, 45 % und 26 % zu den *C*-Nukleosiden **134b**, **134c** und **134d** umgesetzt werden (vgl. Tab. 2). Der Angriff erfolgte im Phenolsystem **138** vollständig selektiv in *para*-Stellung, Indol wurde an der 3-Position substituiert. Die Verwendung des Methoxyzuckers **133** und SnCl₄ anstatt des Chlorozuckers **34** führte im Fall des Phenylsulfonylindols zu einer Verbesserung der Ausbeute von **134daβ** auf 41 %. Wie vor kurzem berichtet wurde, katalysiert auch BF₃·OEt₂ diese Transformation bei Verwendung hoher Überschüsse (6.9 Äq.). Das Produkt **134daβ** wurde dabei in 35 % Gesamtausbeute gebildet.^[149] Versuche, die Ergebnisse auf Anthracen und Fluoren anzuwenden und mit **34** als Glycosyldonor durch Katalyse mit BF₃·OEt₂ umzusetzen, waren nicht erfolgreich. Die Verwendung von Zinntetrachlorid (SnCl₄) führte zu einer schnellen Zersetzung des eingesetzten Chlorozuckers **34** ohne dass eine Produktbildung beobachtet werden konnte.

Für die Umsetzung weniger reaktiver Aromaten war es daher erforderlich, die Lewis-Acidität zu erhöhen. Die Verwendung von Dichlorethan an Stelle von CH₂Cl₂ und die Verwendung von AgOTf waren für den Erhalt optimaler Ausbeuten notwendig. Die Reaktion von Fluoren mit dem Methoxyzucker **133** erfolgte unter Katalyse mit einem SnCl₄/Silbertrifluoracetat-Gemisch (1.0 Äq. SnCl₄/1.5 Äq. AgOTf), wobei 41 % β-1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(2-fluorenyl)ribofuranose **134eβ** und 9 % α-1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(2-fluorenyl)ribofuranose **134eα** gebildet wurden. Nach der Bestimmung des Diastereomerenverhältnisses über ¹H-NMR-Spektroskopie wurden die beiden Epimere getrennt.

Unter analogen Bedingungen konnten auch Benzothiophen, bei dem der Angriff, analog zum Indol, an der 3-Position erfolgt, und 1-Methylnaphthalin, welches in *para*-Stellung zur Methylgruppe substituiert wird, umgesetzt werden. Die Einhaltung der Reaktionsbedingungen war ein kritischer Faktor für den Erfolg der Reaktion. Die Umsetzung von 1-Methylnaphthalin in Gegenwart von 1.5 Äq. $\text{SnCl}_4/\text{AgOTf}$ führte, bei sonst unveränderten Reaktionsbedingungen, in einer zweifachen Friedel-Crafts-Alkylierung zur Bildung von (2*R*,3*S*)-2-Hydroxy-5,5-di(1-(4-methyl)naphthyl)pentyl-1,3-ditoluat **136** in 45 % Ausbeute, ohne dass das gewünschte Produkt **134gaβ** isoliert wurde (Abb. 30B). Die Produkte einer Friedel-Crafts-Alkylierung von Phenanthren, Naphthalin und 1,2,4-Methylbenzen konnten trotz Bemühungen zur Optimierung der Reaktion nicht gewonnen werden. Als ein weiterer Aromat wurde Thioanisol untersucht. Bei -15°C erfolgte keine Umsetzung mit **133**. Raumtemperatur und größere Katalysatorbeladungen (2.0 Äq. $\text{SnCl}_4/2.5$ Äq. AgOTf) ermöglichten die Bildung des C-Nukleosides **134haβ**, welches in einer moderaten Ausbeute von 21 % isoliert wurde.

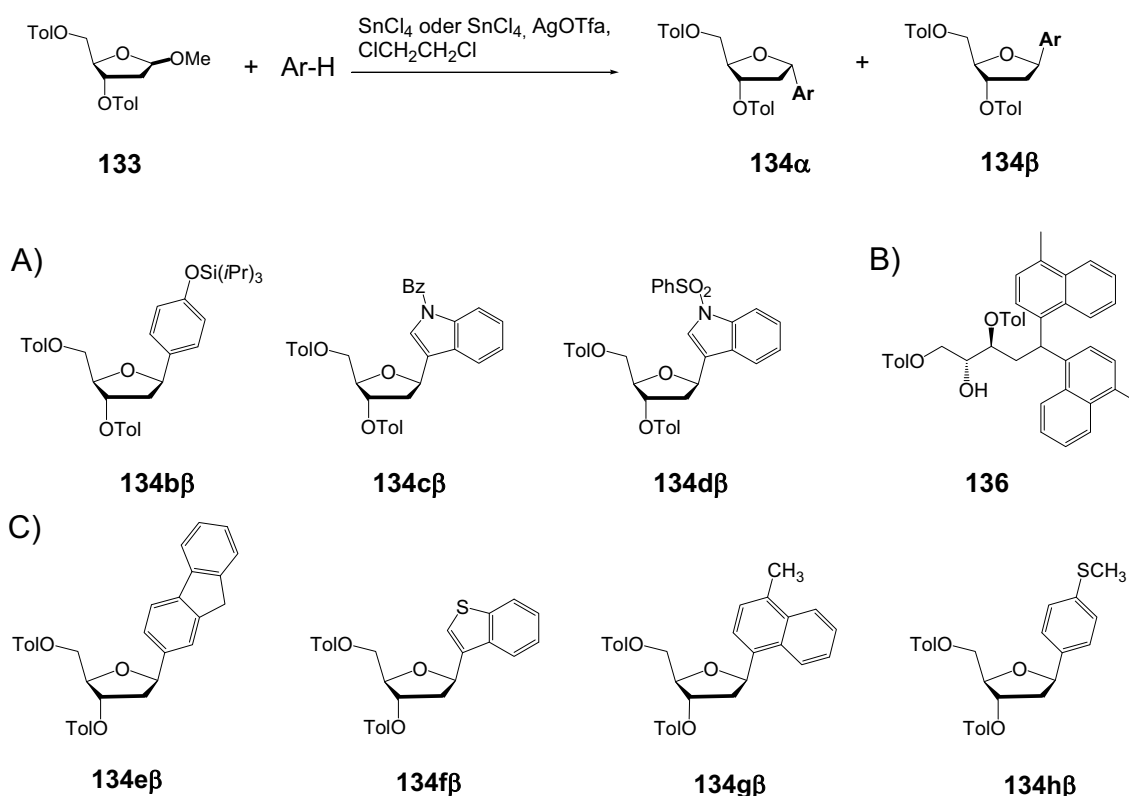


Abbildung 30: Synthesen von C-Nukleosiden mit dem Methoxyzucker **133**. A) Aryl-C-Nukleoside aus der Kupplung an Chlorozucker **34**. B) (2*R*,3*S*)-2-Hydroxy-5,5-di(1-(4-methyl)naphthyl)pentyl-1,3-ditoluat **136**. C) Aryl-C-Nukleoside aus der Kupplung an Methoxyzucker **133**.

Tabelle 2: Ergebnisse zur Friedel-Crafts-Alkylierung mit verschiedenen Aromaten.

Aromat	Donor	Lösungsmittel	T/°C	Aktivator(Äq.)	Produkt	Ausbeute	Verhältnis 142β:142α
Trisopropylsilyl-phenol 130	34	CH ₂ Cl ₂	0	BF ₃ ·OEt ₂ (2.0)	134baβ	20 %	75:25 ^{a)}
<i>N</i> -Benzoylindol 132	34	ClCH ₂ CH ₂ Cl	20	BF ₃ ·OEt ₂ (2.0)	134caβ	45 %	n. b.
<i>N</i> -Phenylsulfonylindol 28	34	CH ₂ Cl ₂	20	BF ₃ ·OEt ₂ (1.7)	134daβ	26 %	60:40 ^{b)}
<i>N</i> -Phenylsulfonylindol 28	133	ClCH ₂ CH ₂ Cl	0	SnCl ₄ (2.3)	134daβ	41 %	78:22 ^{b)}
Fluoren	133	ClCH ₂ CH ₂ Cl	-15	SnCl ₄ (1.0)	134eaβ	49 %	85:15 ^{a)}
				AgOTfa (1.5)			
Benzothiophen	133	ClCH ₂ CH ₂ Cl	-15	SnCl ₄ (1.0)	134faβ	45 %	76:24 ^{a)}
				AgOTfa (1.5)			
1-Methylnaphthalin	133	ClCH ₂ CH ₂ Cl	-15	SnCl ₄ (1.0)	134gaβ	51 %	73:27 ^{a)}
				AgOTfa (1.5)			
Thioanisol	133	ClCH ₂ CH ₂ Cl	20	SnCl ₄ (2.0)	134haβ	33 %	63:37 ^{a)}
				AgOTfa (1.5)			
Phenanthren	133	ClCH ₂ CH ₂ Cl	0	SnCl ₄ (2.0)	Keine Reaktion	-	-
				AgOTfa (1.5)			

^{a)} Bestimmung über ¹H-NMR-Spektroskopie. ^{b)} Isolierte Ausbeuten. n.b. nicht bestimmt.

Die Strukturen der neusynthetisierten Nukleoside wurden über ihr ^1H - ^1H -NOESY-NMR-Spektrum und hochaufgelöste Massenspektrometrie (HRMS) sowie **134f** und **134g** zusätzlich über die ^1H - ^{13}C -HMBC- und HMQC-NMR-Spektren verifiziert. Die wichtigsten Kopplungen werden in Abb. 31 angegeben.

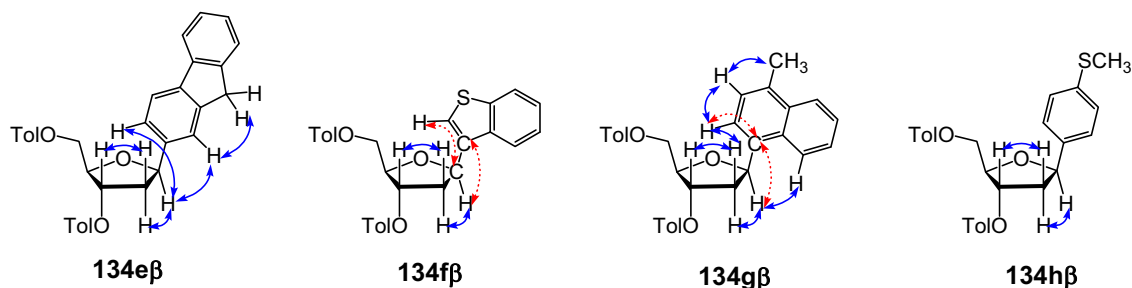


Abbildung 31: Aryl-C-Nukleoside aus der Kupplung an Methoxyzucker **133** mit wichtigen Kopplungen der ^1H - ^1H -NOESY-Spektren (durchgehende Pfeile) und ^1H - ^{13}C -HMBC-NMR-Spektren (gestrichelte Pfeile).

Das NOESY-Spektrum der β -Anomere **134eβ** zeigt charakteristische Kopplungen zwischen $\text{H1}'$ und $\text{H2}'\alpha$ sowie zwischen $\text{H3}'$ und $\text{H2}'\beta$, wodurch die Anomere wie z. B. **134hβ** sicher zugeordnet werden können. Bei einem α -Anomer wie z. B. **134ha** wird hingegen eine größere Kopplung von $\text{H2}'\beta$ als von $\text{H2}'\alpha$ zu $\text{H1}'$ und $\text{H3}'$ beobachtet. Die Konfiguration des Fluorennukleosid-Bistoluylesters **134** konnte über die Kreuzpeaks der H9 -Protonen und von $\text{H1}'$ mit H1 eindeutig geklärt werden, die Aufklärung der Strukturen von **134f** und **134g** ist etwas aufwendiger und erforderte die Zuhilfenahme der ^1H - ^{13}C -HMBC- und HMQC-NMR-Spektren. Abbildung 32 zeigt die allgemeine Nomenklatur der C-Nukleoside am Beispiel vom Fluorennukleosid-Bistoluylesters **134eβ**.

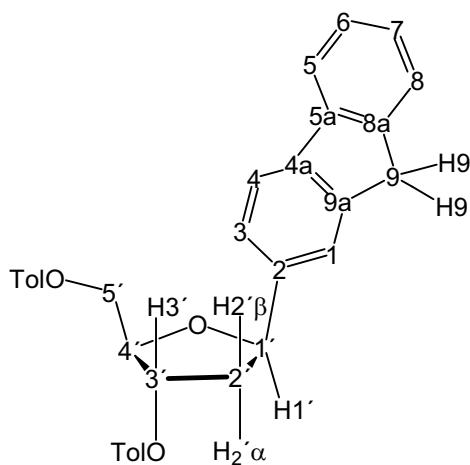


Abbildung 32: Nomenklatur der C-Nukleoside am Beispiel von **134eβ**.

4.1.5 Die Umsetzung von Hoffer's Chlorozucker mit Organocupraten

Wie in Kap. 2.1 geschildert, beruht eine robuste und leistungsfähige Methode zur Synthese von C-Nukleosiden auf der Umsetzung des Chlorozuckers **34** mit Organometallreagenzien. Da die Verwendung von Grignard- und Organolithiumverbindungen überwiegend zu Eliminierungsprodukten anstelle der gewünschten nukleophilen Substitution führt, werden sie zunächst in weniger basische Organocuprat-Spezies überführt. Je nach vorhandenen Gegenionen werden Normant-Cuprate (Ar_2CuMgBr), Gilman-Cuprate (Ar_2CuLi), higher-order-Cyanocuprate ($\text{Ar}_2\text{CuLi}(\text{CN})\text{Li}$) bzw. lower-order-Cyanocuprate ($\text{ArCuLi}(\text{CN})$) und (Zink)-Knochel-Cuprate ($\text{ArCu}(\text{CN})\text{ZnI}$) unterschieden

Normant-Cuprate werden, ausgehend von Grignard-Reagenzien, durch Transmetallierung mit Kupferiodid oder Kupferbromid-Dimethylsulfid synthetisiert. Gilman-Cuprate, higher-order-Cyanocuprate bzw. lower-order-Cyanocuprate und Knochel-Cuprate werden ausgehend von Lithiumorganylen, durch Transmetallierung mit Kupferiodid oder mit Kupfercyanid dargestellt. Weitere Additive wie Tri-*n*-Butylphosphin oder der Einsatz von Heterocupraten können die Reaktivität modulieren (Abb. 33).^[150,151,152]

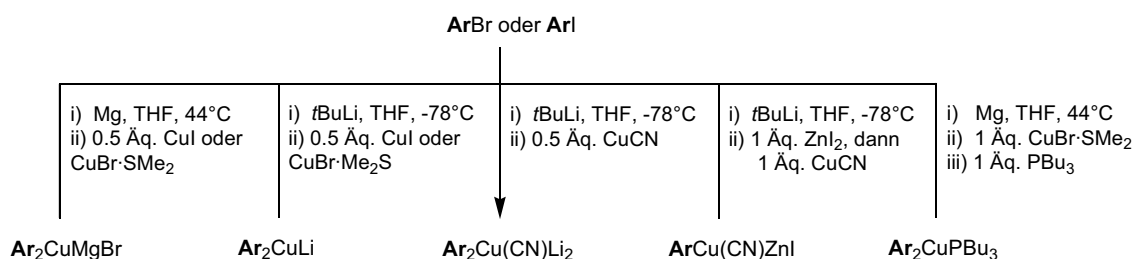


Abbildung 33: Synthese von verschiedenen Organocupraten und Kupferorganylen.

Zum Testen der optimalen Reaktionsbedingungen wurde wiederum der Pyrennukleosid-toluoyl-ester (**134aaβ**) als repräsentatives Beispiel gewählt. Die Optimierung wurde bereits im Rahmen der Diplomarbeit durchgeführt.^[48] Das Grignard-Reagenz 1-Pyrenylmagnesiumbromid wurde in THF ausgehend von 1-Brompyren **137** durch Umsetzung mit stöchiometrischen Mengen Magnesium dargestellt. Durch die Zugabe eines halben Äquivalentes Kupferiodid kam es zur Bildung des Normant-Cuprates. Dabei fand ein Farbumschlag von blassgelb zu rot statt. Nach der Zugabe des Chlorozuckers **34** erfolgte die C-Glycosylierung. Wurde die Kupplung bei -10°C für 1 h durchgeführt, so konnte das bistoluoyl-geschützte Produkt als Mischung des α-Anomers **134aa** und des β-Anomers **134aβ** in 74 % Ausbeute

isoliert werden (Eintrag 1, Tab. 3). Ein wichtiges Nebenprodukt, dessen Bildung besonders deutlich bei Verwendung von nicht ausreichend trockenem THF beobachtet werden konnte, ist *p*-Toluoylfurfurat **141** (Abb. 34). Eine intensiv blau-fluoreszente Bande auf der Dünnschichtchromatographie wies zudem auf kleinere Mengen des Bispyrenyls hin. Eine Erhöhung der Reaktionstemperatur auf 40°C führte zu einer deutlichen Steigerung der Kupplungsausbeute auf 93 % und zu einer Veränderung des Enantiomerenverhältnisses von $\alpha:\beta = 4:1$ auf 3:1 (Eintrag 2, Tab. 3). Auch bei 60°C verlief die Reaktion erfolgreich und die Produkte **134a α β** konnten in 86 % Ausbeute isoliert werden, wobei sich das Enantiomerenverhältnis weiter zugunsten des β -Anomers **134a β** verschiebt ($\alpha:\beta = 2.3:1$). Andere Veränderungen wie die Verwendung von (additiven) Lösungsmitteln wie 1,4-Dioxan, Dichlormethan oder Toluol, die inverse Zugabe des Cuprates zum Chlorozucker **34** oder die strikte Vermeidung von Iodid-Ionen hatte keinen Effekt auf die Syntheseausbeuten oder die Selektivitäten. Die optimierten Bedingungen wurden für die Synthese weiterer C-Nukleoside eingesetzt. So führte die Reaktion des Normant-Cuprates 3-(Tolyl)₂CuMgBr mit dem Chlorozucker **34** zum 3-Tolylnukleosid-Bistoluylester **134i** in 87 % Ausbeute ($\alpha:\beta = 1.5:1$). Die Synthese des Nukleosides **134i** war zuvor bereits über die entsprechenden Organocadmium- und Organolithiumverbindungen durch Reaktion des Chlorozuckers **34** und des Ribonolactons **8** beschrieben worden, wobei im direkten Vergleich geringere Ausbeuten von 72 % bzw. 35 % erzielt wurden.^[21,61]

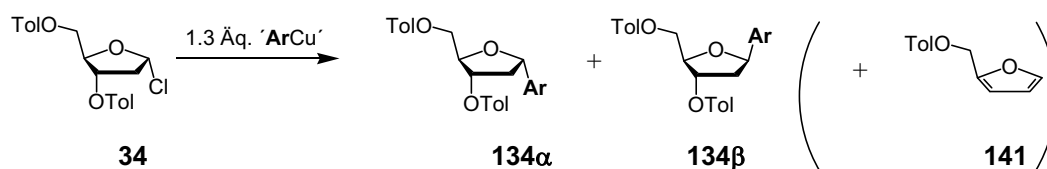
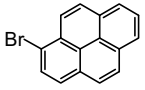
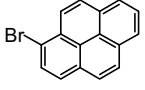
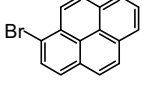
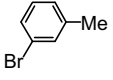
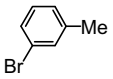
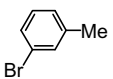
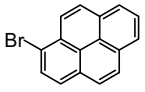
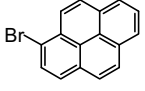
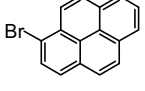
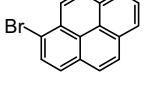
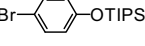
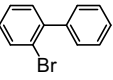
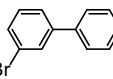
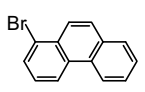
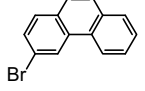
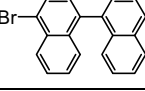


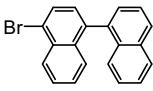
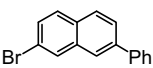
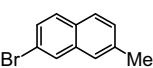
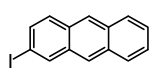
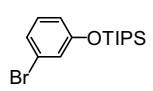


Abbildung 34: Synthese von C-Nukleosiden über Organocuprate.

Tabelle 3: Reagenzien, Bedingungen und Ausbeuten der verschiedenen durchgeführten Cupratreaktionen.

Eintrag	Produkt	Cuprat	Aromat	Bedingungen	Selektivität 134α: 134β ^{a)}	Ausbeute
1 ^b	134a$\alpha\beta$	Ar ₂ CuMgBr		137 1 h; -10°C – RT	4:1	75 %
2 ^b	134a$\alpha\beta$	Ar ₂ CuMgBr		137 1 h; 40°C	3:1	93 %
3 ^b	134a$\alpha\beta$	Ar ₂ CuMgBr		137 1 h; 60°C	2.3:1	86 %
4	134i$\alpha\beta$	Ar ₂ CuMgBr		138 1 h; 40°C	1.5:1	87 %
5	134i$\alpha\beta$	Ar ₂ CuLi		138 18 h; -18°C – RT	4:1	63 %
6	134i$\alpha\beta$	Ar ₂ CuLi		138 18 h; -40°C	4:1	40 %
7 ^b	134a$\alpha\beta$	Ar ₂ CuLi		137 18 h; -18°C – RT	>20:1	22 %
8 ^b	134a$\alpha\beta$	Ar ₂ CuLi		137 18 h; -78°C – RT	>20:1	69 %
9 ^b	134a$\alpha\beta$	Ar ₂ Cu(CN)Li ₂		137 18 h; 0°C – RT	>20:1	63 %
10 ^b	134a$\alpha\beta$	ArCu(CN)ZnI		137 18 h; 0°C – RT	>20:1	39 %
11	134b$\alpha\beta$	Ar ₂ CuMgBr		128 1 h; 40°C	n. b.	68 %
13	134j$\alpha\beta$	Ar ₂ CuMgBr		139 1 h; 40°C	1:1.3	83 %
12	134k$\alpha\beta$	Ar ₂ CuMgBr		140 1 h; 40°C	1.6:1	84 %
14	134l$\alpha\beta$	Ar ₂ CuMgBr		108 1 h; 40°C	3:1	80 %
15	134m$\alpha\beta$	Ar ₂ CuMgBr		112 1 h; 40°C	3:1	86 %
16	134n$\alpha\beta$	Ar ₂ CuMgBr		114 1 h; 40°C	3:1	75 %

n.b. nicht bestimmt. a) bestimmt über ¹H-NMR. b) entnommen aus^[48]

Tabelle 3 (Fortsetzung): Reagenzien, Bedingungen und Ausbeuten der verschiedenen durchgeführten Cupratreaktionen.

Eintrag	Produkt	Cuprat	Aromat		Bedingungen	Selektivität 134 α : 134 β ^{a)}	Ausbeute
17	134na β	Ar ₂ CuMgBr		114	1 h; 40°C	n. b.	95 %
18	134oa β	Ar ₂ CuMgBr		117	1 h; 40°C	1:1.5	76 %
19	134pa β	Ar ₂ CuMgBr		121	1 h; 40°C	1.2:1	84 %
20	134qa β	Ar ₂ CuLi		124	18 h; -25°C	>20:1	47 %
21	134ra β	Ar ₂ CuMgBr		126	1 h; 40°C	n. b.	86 %
22	35a β	ArCuPBU ₃		7	1 h; RT	3:1	63 %
23	35a β	Ar ₂ CuMgBr		7	1 h; 40°C	2.7:1	81 %

n.b. nicht bestimmt. a) bestimmt über ¹H-NMR.

Anschließend wurden die Gilman-Cuprate Ar₂CuLi studiert, die durch Transmetallierung der Organolithiumverbindungen mit einem halben Äquivalent Kupferiodid gebildet werden. Zunächst wurde das 3-Tolyl-basierende Cuprat mit Chlorozucker **34** umgesetzt. In Analogie zu den von Bihovsky *et al.* beschriebenen Bedingungen, verlaufen die Reaktionen deutlich langsamer und es wurden deutlich niedrigere Temperaturen und längere Reaktionszeiten von bis zu 18 h benötigt. Zudem waren die Reaktionen deutlich schwieriger zu kontrollieren und anfälliger als die mit Normant-Cupraten durchgeführten Umsetzungen. Gilman-Cuprate sind bekanntermaßen empfindlich gegenüber Sauerstoff und anderen redoxaktiven Spezies, so dass selbst eine Verunreinigung des Kupfersalzes eine potentielle Quelle für die Bildung von Aromatendimeren und anderen Nebenreaktionen darstellt.^[150] Die höchste Ausbeute von 63 % (Produkt **134ia β**) wurde bei Durchführung der Reaktion bei -18°C in THF erzielt (Eintrag 5, Tab. 3). Dabei war die Bildung des α -Anomers jedoch gegenüber der des β -Anomers im Verhältnis 4:1 bevorzugt. Eine zu den Arbeiten von Bihovsky *et al.* analoge Beobachtung der bevorzugten Bildung von β -Anomeren konnte nicht gemacht werden (vgl. Kap. 2.1).^[49] Sogar im direkten Vergleich mit dem Normant-Cuprat (Eintrag 4, Tab. 3) ist das Verhältnis der Anomere deutlich ungünstiger. Ein Absenken der Reaktionstemperatur auf -40°C führte

unerwarteterweise zur Bildung eines Aryl-*O*-Glycosides **142aαβ**, welches eindeutig durch ^{13}C -, ^1H -NMR, HRMS und durch Vergleich mit bekannten Verbindungen charakterisiert werden konnte (Abb. 35).^[67]

Die Verwendung von sorgfältig entgastem THF löste das Problem der *O*-Glycosidbildung. Jedoch wurde in diesem Ansatz eine Reduktion der Ausbeute des *C*-Nukleosides **134i** auf 40 % beobachtet (Eintrag 6, Tab. 3). Unter den Bedingungen, die für die Synthese des 3-Tolyl-*C*-nukleosides **134i** optimiert worden waren, lieferte die Synthese des 1-Pyrenyl-*C*-nukleosides **134a** nur 22 % Ausbeute (Eintrag 7, Tab. 3). Es war daher notwendig die Reaktionstemperatur auf -78°C abzusenken. Unter diesen Bedingungen wurden **134aα** in hohem Überschuss ($\alpha:\beta > 20:1$) in 69 % Ausbeute gebildet (Eintrag 8, Tab. 3). Die Verwendung des higher-order-Cyanocuprates $(1\text{-Pyrenyl})_2\text{Cu}(\text{CN})\text{Li}_2$ oder des Zink-Kupfer-Reagenzes $(1\text{-Pyrenyl})\text{Cu}(\text{CN})\text{ZnI}$ führte zu keiner Erhöhung der Reaktionsausbeuten (Einträge 9 und 10, Tab. 3). Auch in diesen Beispielen wurde überwiegend das α -Anomer gebildet.

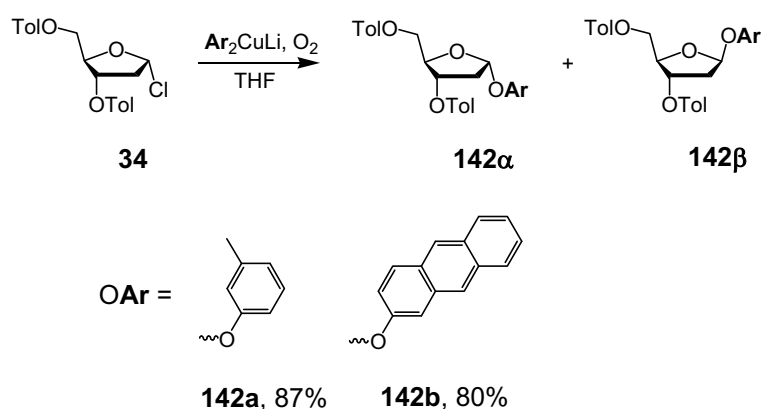


Abbildung 35: Synthese von Aryl-*O*-Glycosiden.

Da die Synthese mit Normant-Cupraten erfolgversprechender war und zu höheren Ausbeuten führte, wurde sie in weiteren Ansätzen zur *C*-Nukleosidsynthese bevorzugt eingesetzt. Die Aromaten **108**, **112**, **114**, **117**, **121**, **126** und **128** wurden unter den zuvor beschriebenen Bedingungen in die Normant-Cuprate überführt und anschließend mit dem Chlorozucker umgesetzt. Die Umsetzung zu **134jaβ** – **134raβ** erfolgte zuverlässig in 68 – 95 % Ausbeute ohne dass eine weitere Optimierung der Reaktionsbedingungen notwendig war. Bei vielen Reaktionen lag die durch ^1H -NMR-Spektren der Produktgemische bestimmte Stereoselektivität $\alpha:\beta$ im Bereich von 3:1. Auch in den Fällen, in denen die Selektivität nicht quantitativ bestimmt wurde, ist die Bildung der α -Anomere **134ba**, **134ma** und **134ra** deutlich bevorzugt. Bemerkenswerte Ausnahmen bilden die auf einer 2-Naphthylstruktur

basierenden C-Nukleoside **134o** und **134p** sowie das sterisch überladene 2-Biphenylnukleosid **134j**, bei denen keine Bevorzugung des α -Anomers **134a** zu erkennen war. Die Umsetzung eines 1-Naphthyl-tri-*n*-butylphosphin-aktivierten Kupferorganyls, welches am Kupferzentrum möglicherweise sterisch stärker abgeschirmt ist, als ein entsprechendes Normant-Cuprat, konnte zwar in nützlichen 63 % Ausbeute durchgeführt werden, eine Begünstigung der Bildung des β -Anomers **35 β** wurde dabei jedoch nicht erzielt (Eintrag 22, Tab. 3).

Für die Synthese des 2-Anthracenylnukleosides **134q** wurde das über Lithiierung gewonnene Gilman-Cuprat von 2-Iodanthracen **124** verwendet, da die Darstellung des Grignardreagenzes **124** nicht möglich war. Magnesium und Anthracen bilden einen Gleichgewichtskomplex, der zur Aktivierung von Magnesium genutzt werden kann.^[153] Die Kupplung an Chlorozucker **34** benötigte wiederum einige Optimierungsarbeit, so dass **134q** in 47 % Ausbeute erhalten wurde. Auch in diesem Fall konnte bei Reaktionstemperaturen unterhalb von 40°C das Aryl-*O*-glycosid **142b** isoliert werden, wenn das THF nicht entgast wurde. Um diese Beobachtungen zu bestätigen, wurde die Umsetzung mit dem 3-Tolyl-Gilman-Cuprat und dem 2-Anthracenyl-Gilman-Cuprat nochmals in einer Luftatmosphäre durchgeführt. Die Reaktionen lieferten das bistoluoylierte 3-Tolyloxy-2'-desoxyribosid (**142aa β** ; $\alpha:\beta = 2.5:1$; 87 %) und das 2-Anthracenyloxy-2'-desoxyribosid (**142ba β** ; $\alpha:\beta = 4:1$; 80 %) in überraschend guten Ausbeuten (Abb. 35). Aryl-*O*-Glycoside werden häufig über Lewis-Säure katalysierte Reaktionen von Arylalkoholen an Glycosyldonoren dargestellt. Unter zu aggressiven Reaktionsbedingungen findet dabei jedoch eine Umlagerung zu *ortho*-Hydroxy-*C*-glycosiden, eine sogenannte *O*-*C*-Glycosidumlagerung, statt.^[15] Im Gegensatz dazu konnten über Gilman-Cuprate Aryl-*O*-Glycoside in überwiegend α -anomerer Form und ohne Nebenreaktionen synthetisiert werden.

Die Versuche, die Umsetzung mit Gilman-Cupraten oder alternativ mit Zinkorganylan auf Heteroaromaten wie 3-Bromchinolin **143** auszuweiten, waren nicht erfolgreich (Abb. 36). Die Arbeitsgruppe um Michal Hocek, die analog versucht hat, über Cuprate und andere Organometallreagenzien Pyridine an Chlorozucker **34** zu koppeln, konnte ebenfalls keine Produktbildung beobachten.^[154] Gleichwohl ist die Verwendung von Pyridylkupferreagenzien beschrieben worden.^[155] Die Verwendung von 3-Brom-*N*-TBS-Indol **144**, bei dem der Stickstoff des Heteroaromaten nicht zugänglich ist, war ebenfalls nicht erfolgreich. Daher kann angenommen werden, dass die Cuprat-vermittelte Glycosylierung für die Kupplung von Chlorozucker **34** an stickstoffhaltige Aromaten nicht geeignet ist.

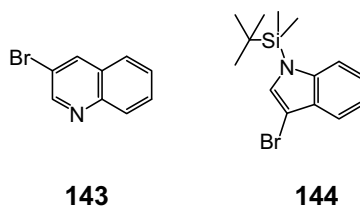


Abbildung 36: 3-Bromchinolin **143**, 3-Brom-*N*-TBS-indol **144**.

In vorherigen Abschnitt wurde die Umsetzung des allgemein gebräuchlichen Chlorozuckers **34** gezeigt. Organocuprate besitzen ein charakteristisches Reaktivitätsprofil, wodurch zum Beispiel auch die nukleophile Substitution von allylischen Estern und einfachen anomeren Pyranosylestern durchführbar ist. Die Umsetzung mit anomeren Zuckeracetaten wurde jedoch als nicht erfolgreich beschrieben.^[81] Da 2-Desoxyribosederivate reaktiver als andere Zucker sind, wurde α,β -2-Desoxy-3,5-di-*O*-toluoyl-1-*O*-acetylribofuranose **145** als Alternative zu **34** bei der Cuprat-vermittelten Glycosylierung des 2-Naphthyl-Normant-Cuprates getestet (Abb. 37). Die Synthese des Zuckeracetates **145** erfolgte analog einer Literaturvorschrift durch direkte Umsetzung des Methoxyzuckers **133** mit Essigsäureanhydrid.^[156] In Gegenwart katalytischer Mengen Schwefelsäure wurden ohne weitere Optimierungsbemühungen nach einmaliger Umsetzung 39 % Ausbeute erhalten. Die Cuprat-vermittelte Glycosylierung verlief unter den zuvor optimierten Bedingungen der Normant-Cuprat-katalysierten Reaktionen erfolgreich und führte in 65 % Ausbeute zum 2-Naphthylnukleosid **134sa β** .

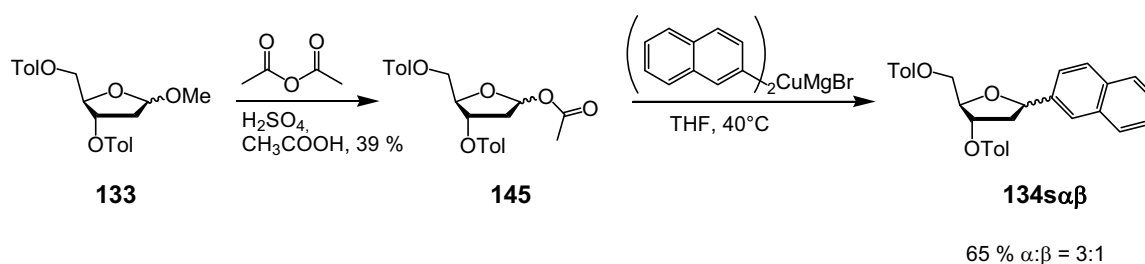


Abbildung 37: Synthese des Bausteins **145** und Umsetzung mit einem 2-Naphthyl-Normant-Cuprat.

Die Bistoluoyl-geschützten Produkte **134a β** konnten in den meisten Fällen mittels Flash-Chromatographie getrennt werden. Der größte Teil der jeweiligen Produktmenge lag aber auch nach der Aufreinigung als Anomerengemisch **134a β** vor, bei einem Teil der Produkte wurde aufgrund der geringen Differenz der R_F -Werte zwischen **134a** und **134b** keine sauberen Trennungen erzielt. Mit diesen Fraktionen wurde eine mit Trifluoressigsäure oder Trifluoressigsäure/Benzensulfonsäure (5:1, Volumen:Masse) katalysierte Epimerisierung in CH_2Cl_2 durchgeführt, wobei die thermodynamisch stabileren β -Anomere **134b** angereichert wurden.

Tabelle 4: Reagenzien, Bedingungen und Ausbeuten der Epimerisierungsreaktionen in CH₂Cl₂ bei 40°C.

134α **134β**

Eintrag	Toluoyl- ester	Epimerisierungs- bedingungen	Ausgangs- verhältnis α:β ^{a)}	Produkt- verhältnis α:β ^{a)}	Ausbeute 142β
1	134a	1 % TFA	3:1	1:2.3	57 %
2	134i	10 % TFA/PhSO ₃ H	1.5:1	1:2.4	52 %
4	134k	18 % TFA/PhSO ₃ H	1.6:1	1:2.6	59 %
5	134l	6 % TFA/PhSO ₃ H	3:1	1:2.1	58 %
6	134m	6 % TFA/PhSO ₃ H	3:1	1:3	64 %
7	134n	6 % TFA/ PhSO ₃ H	3:1	1:1.5	49 %
8	134o	12 % TFA/PhSO ₃ H	>20:1	1:3.9	46 %
9	134p	5 % TFA	5:1	1:1.2	51 %
10	134q	5 % TFA	>20:1	1:2.6	44 %
11	134s	5 % TFA	3:1	1:1.5	45 %

a) bestimmt über ¹H-NMR.

Bei dem 2-Biphenylnukleosid **134jaβ** war eine Epimerisierung aufgrund des günstigen Enantiomerenverhältnisses nicht notwendig. Bei den Nukleosiden **134b** und **134r** wurde die Epimerisierung trotz der überwiegend α-anomeren Produkte nicht durchgeführt, da eine teilweise oder vollständige Abspaltung der Triisopropylsilyl-Schutzgruppe erwartet wurde und ausreichend Material für die weiteren Stufen zur Verfügung stand. Im Allgemeinen erforderte die Epimerisierung elektronenreicher Aryl-C-nukleoside gegenüber elektronenarmen Nukleosiden weniger Katalysator. So wurde zum Beispiel das Nukleosid **134a**, welches eine elektronenreiche 1-Pyrenylgruppe trägt, bereits in einer Lösung von 1 %iger TFA epimerisiert. Im Gegensatz dazu benötigten die vergleichsweise elektronenarmen meta-substituierten Nukleoside **134i** und **134k** 10 %ige und 18%ige Lösungen von TFA/Benzensulfonsäure (Tab. 5). Somit konnten von elf Nukleosiden nach zwei Epimerisierungszyklen bis zu 70 % des β-Anomers isoliert werden. Die α- und β-Form des 2-Biphenylnukleosid-bistylesters **134j** hatten jedoch identische R_F-Werte. In diesem Fall erfolgte die Trennung der Epimere nach Abspaltung der Schutzgruppen über präparative RP-HPLC.

4.1.6 Darstellung des Phenyloxynukleosides und des Indol-*N*-Nukleosides

Zusätzlich zu den Aryl-*C*-nukleosiden wurden das Phenyloxynukleosid **142caβ** und das Indol-*N*-nukleosid **134taβ** benötigt. Die Synthese von **142caβ** orientierte sich an der Synthese des in der Literatur beschriebenen 4-Iodphenyloxynukleosides.^[157] Analog dazu wurde Phenol in DMF mit Natriumhydrid in das Phenolat überführt und anschließend mit dem Chlorozucker **34** in 60 % Ausbeute umgesetzt. Das Indol-*N*-nukleosid **134taβ** wurde nach einer bekannten Literaturvorschrift in 71 % Ausbeute dargestellt (Abb. 38).^[58]

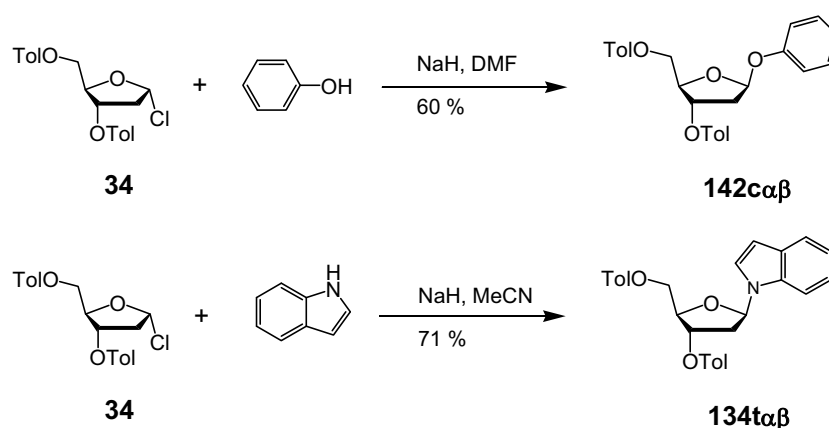


Abbildung 38: Synthese des Phenyloxynukleosides und des Indol-*N*-Nukleosides.

4.1.7 Darstellung der Bausteine für die DNA-Synthese

Für die automatisierte DNA-Synthese wurden 5'-DMT-geschützte 3'-Phosphoramidite benötigt. Diese wurden in drei Stufen aus den Toluolestern **134** hergestellt (Abb. 39). Zunächst wurden die Toluoylschutzgruppen mit Natriummethylat in Methanol entfernt. Im Fall des Indol-*C*-nukleosides **134cβ** wurde unter diesen Bedingungen ebenfalls die Benzoylschutzgruppe am Arylstickstoff abgespalten, wodurch es zu einer basisch katalysierten Epimerisierung kam. Das erhaltene Diastereomerengemisch wurde in den weiteren Synthesestufen eingesetzt.

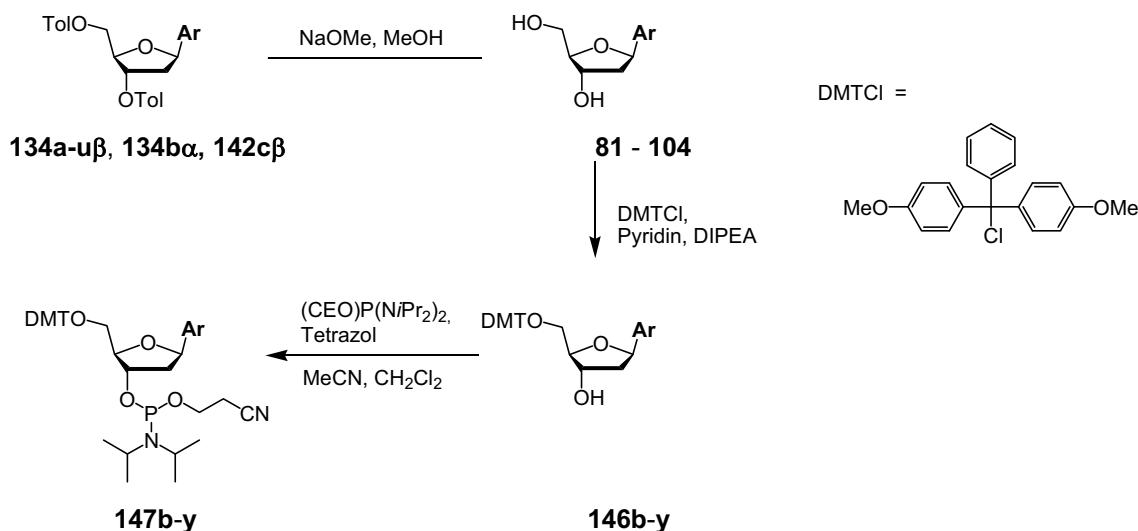


Abbildung 39: Darstellung der Phosphoramidite.

Die freien Nukleoside wurden mit 4,4'-Dimethoxytritylchlorid (DMTCl) in die 5'-DMT-Ether **146b-y** überführt. Die Verwendung von 1.3 Äq. DMTCl ermöglichte die Synthese ohne größere Mengen an 3',5'-bistritylierten Nukleosiden zu erzeugen. Die Ausbeuten lagen im Bereich von 49 %– 89 % und sind nicht optimiert (Tab. 5). Sie spiegeln für die DNA-Synthese bedarfsgerechte Ansatzgrößen und längere Lagerzeiten wieder, für die ungeschützte C-Nukleoside nur bedingt geeignet sind. Bei den C-Nukleosiden handelt es sich streng genommen nicht um glycosidische Verbindungen, sondern um überwiegend elektronenreiche benzyliche Ether, deren Desoxyribosyleinheit, wenn sich keine Schutzgruppen an der 3'- und 5'-Hydroxylfunktionen befindet, ebenfalls elektronenreich ist. Daher ist bei einer Lagerdauer über mehrere Monate eine Reaktion mit Sauerstoff auch bei tiefen Temperaturen von -20°C möglich. Im Anschluss wurden die Tritylether unter klassischen Bedingungen mit Bis(diisopropylamino)(2-cyanoethoxy)phosphin zu den Phosphoramiditen **147b-y** umgesetzt. Nach der Neutralisation mit einer Aminbase wurde eine Kieselgelfiltration durchgeführt, wobei es notwendig war, schnell und säurefrei zu arbeiten, um eine Hydrolyse oder Oxidation des Phosphorzentrums zu verhindern. Die Phosphoramidite wurden in 48 – 91 % Ausbeute isoliert. Die Charakterisierung erfolgte über ¹H-, ¹³C- und ³¹P-NMR-Spektroskopie sowie über HRMS, bevor die Phosphoramidite in der DNA-Synthese eingesetzt wurden.

Tabelle 5: Ausbeuten der Toluylesterspaltungen, DMT-Schützungen und der Synthese der Phosphoramidite.

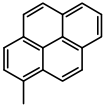
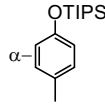
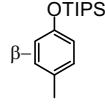
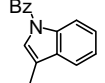
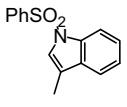
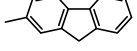

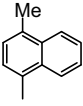
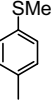

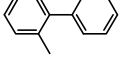
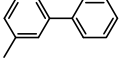
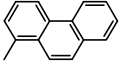
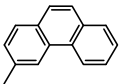
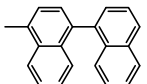
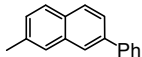
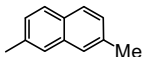
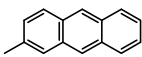
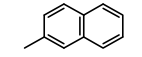
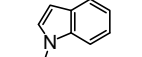
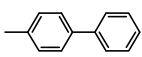
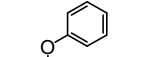
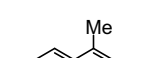
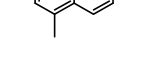
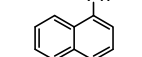
Toluylester	Ar	Nukleosid		DMT-Ether		Phosphoramidit	
		Produkt	Ausbeute	Produkt	Ausbeute	Produkt	Ausbeute
134aβ		81	91 %	146a	-	147a	-
134ba		102	79 %	146ba	51 %	147ba	65 %
134bβ		101	73 %	146bβ	50 %	147bβ	71 %
134cβ		99	99 %	146c	49 %	147c	64 %
134dβ		99d	96 %	146d	89 %	147d	-
134eβ		92	79 %	146e	77 %	147e	80 %
134fβ		103	82 %	146f	-	147f	-
134gβ		83	95 %	146g	83 %	147g	53 %
134hβ		104	99 %	146h	-	147h	-
134iβ		96	92 %	146i	69 %	147i	48 %
134jβ		93	81 %	146j	72 %	147j	67 %
134kβ		94	91 %	146k	70 %	147k	60 %
134lβ		82	80 %	146l	63 %	147l	65 %
134mβ		87	87 %	146m	89 %	147m	80 %
134nβ		84	93 %	146n	75 %	147n	81 %

Tabelle 5 (Fortsetzung): Ausbeuten der Toluylesterspaltungen, DMT-Schützungen und der Synthese der Phosphoramidite.

Toluylester	Ar	Nukleosid		DMT-Ether		Phosphoramidit	
		Produkt	Ausbeute	Produkt	Ausbeute	Produkt	Ausbeute
134oβ		88	92 %	146o	61 %	147o	84 %
134pβ		89	64 %	146p	68 %	147p	64 %
134qβ		90	57 %	-	-	-	-
134sβ		91	89 %	146s	84 %	147s	79 %
134tβ		98	82 %	146t	58 %	147t	61 %
134uβ		95	90 %	146u	86 %	147u	57 %
142cβ		97	94 %	146v	68 %	147v	91 %
- ^{a)}		-	-	146w	-	147w	52 %
- ^{a)}		-	-	146x	-	147x	13 %
- ^{a)}		-	-	146y	-	147 y	45 %

a) DMT-Ether bereitgestellt durch Dr. I. Singh.

4.1.8 Vergleich der Aryl-C-Nukleosidsynthesen mit bekannten Verfahren

Es sind verschiedene leistungsstarke Verfahren entwickelt worden, um die kritische C-C-Kupplung zu ermöglichen und zu verbessern. Ideal sind Methoden, die preisgünstige und leicht verfügbare Ausgangsmaterialien verwenden, wenig Optimierung benötigen und über eine minimale Anzahl von Synthesestufen verlaufen.

Die Kupplung von Aryllithiumreagenzien an Disiloxan-geschützte Ribonolactone (Abb. 3B) wird häufig angewendet und ist für eine große Bandbreite von Aromaten einsetzbar. Die kritische C-C-Kupplung erfolgt in Ausbeuten von bis zu 56 %. Es wurden jedoch nur 17 % Ausbeute während der Kupplung eines 2'-modifizierten Nukleosides beobachtet.^[21]

Die Friedel-Crafts-Alkylierung bietet den direktesten Weg zu C-Nukleosiden, die für die Oligonukleotid-Synthese geeignet sind. Ausgehend von 2-Desoxy-D-ribose können die C-Nukleoside in vier Stufen synthetisiert werden. Ungeachtet dessen müssen die Reaktionsbedingungen jeweils angepasst werden, um optimale Ausbeuten zu erreichen. Die erhaltenen Ausbeuten und die verwendeten Reaktionsbedingungen korrelieren mit der Reaktivität der eingesetzten Aromaten.

Die Hammett-Brown-Beziehung beschreibt die Reaktivität an einer bestimmten Position eines Aromaten. Die Reaktivität der gekuppelten Aromaten ist im Vergleich mit Benzen hoch. Es sind einige Aromaten in Tabelle 6 angegeben.^[158]

Tabelle 6: Reaktivität verschiedener Aromaten.

Aren	σ^+ -Paramter
Benzen	0
Naphthalin	-0.35
Phenanthren	-0.39
Fluoren	-0.48
Benzothiophen	-0.56
1-Methylnaphthalin	-0.57
Thioanisol	-0.60
Pyren	-0.68
Anisol	-0.78
<i>N,N</i> -Dimethylanilin	-1.74
<i>N</i> -Methylindol	-1.93



Phenanthren und Naphthalin, die nicht reagierten, weisen σ^+ -Parameter von -0.39 und -0.35 auf. Die reaktivieren Aromaten Fluoren ($\sigma^+ = -0.48$), Benzothiophen ($\sigma^+ = -0.54$), 1-Methylnaphthalin ($\sigma^+ = -0.57$) und Thioanisol ($\sigma^+ = -0.60$) wurden hingegen erfolgreich durch Aktivierung des Methoxyzuckers **133** mit dem $\text{SnCl}_4/\text{AgOTf}$ -Paar umgesetzt. Die Friedel-Crafts-Alkylierung bietet sich demzufolge für die Umsetzung elektronenreicher Aromaten mit einer Hammett-Konstante von $\sigma^+ < -0.40$ zu C-Nukleosiden an. Die im Vergleich geringe Reaktivität von Thioanisol ist wahrscheinlich auf die Thioetherfunktion zurückzuführen, die eine Koordinationsstelle für Metallelektrophile bietet. Die Gruppe der besonders aktiven Aromaten (vgl. Tab.1) erfordert die Verwendung milderer Reaktionsbedingungen, da auch bereits gebildete Produkte weiter umgesetzt oder zerstört werden können. So können Pyren ($\sigma^+ = -0.68$), sowie Phenol- und Indolderivate erfolgreich

mit dem Chlorozucker **34** gekuppelt werden, wenn milde Lewis-Säuren wie $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ oder AgBF_4 verwendet werden. Alternativ ist auch eine Anpassung der Reaktionsbedingungen mit dem Methoxyzucker **133** möglich, wobei sowohl $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ als auch katalytische Mengen von SnCl_4 verwendet werden können.

Die Cuprat-vermittelte Glycosylierung unter Verwendung des Chlorozuckers **34** verbindet eine breite Anwendbarkeit mit Prägnanz (6 Synthesestufen) und hohen C-C-Kupplungsausbeuten von bis zu 95 %, wenn Normant-Cuprate verwendet werden. Selbst sterisch gehinderte Aromaten wie 2-Brombiphenyl können problemlos eingesetzt werden (83 % Ausbeute). Die Reaktionen verlaufen, wie die analogen Cadmiumorganyl-vermittelten Reaktionen, unter neutralen Reaktionsbedingungen, bei im direkten Vergleich besseren Ausbeuten. Der schwerwiegendste Nachteil ist die bevorzugte Bildung von α -Anomeren, die jedoch durch eine leistungsstarke Epimerisierungsmethode in die β -Anomere überführt, und im Vergleich zu anderen Methoden in kompetitiven Ausbeuten gewonnen werden. Die aktuelleren Arbeiten der Arbeitsgruppe um Knochel zeigen den Zugang zu einer großen Bandbreite von funktionalisierten Aryl-Grignard-Reagenzien über den Halogen-Metall-Austausch mit Isopropylmagnesiumchlorid und deren Verwendung in Kupfer-vermittelten Reaktionen.^[159] Auf diesem Weg könnten auch die Synthese von C-Nukleosiden, die Nitril-, Ester- oder Amidfunktionen tragen, gelingen. Lithium-basierende Cuprate können wie Normant-Cuprate zur C-C-Kupplung eingesetzt werden. Obwohl ihre Chemie deutlich schwieriger zu kontrollieren ist und die Kupplungen zu niedrigeren Ausbeuten führen, bieten sie eine Alternative in Fällen bei denen das Grignard-Reagenz nicht zugänglich ist. So gestatten Lithiumorganyl-basierende Cuprate, wie von Carrell *et al.* gezeigt wurde, das Einführen verschiedener funktioneller Gruppen.^[47] Sie bieten des weiteren einen Zugang zu α -Anomer-angereicherten Aryloxy-2'-desoxynukleosiden in hohen Ausbeuten. Diese können, wenn auch in deutlich geringeren Ausbeuten über Zinkorganyle gewonnen werden.^[67] Im Unterschied zu Ribonolactonen eignen sich Cuprate nicht für C-C-Kupplungen an stickstoffhaltigen Heteroaromaten wie Pyridine. Andere aufwendigere Syntheseverfahren, wie die Heck-Kupplung oder die *syn*-Öffnung von 1,2-Anhydroarabinose mit Organoaluminium-reagenzien gestatten einen stereoselektiven Zugang zu β -Nukleosiden. Dessen ungeachtet bietet die Cuprat-vermittelte Reaktion den einfachsten und schnellsten Weg zur Synthese „einfacher“ Aryl-C-Nukleoside.

4.2 C-Nukleosid-modifizierte Oligonukleotide als Binder an DNA-Mtasen

4.2.1 Synthese der Oligonukleotide

Die verschiedenen modifizierten DNA-Oligonukleotide wurden im 1 µmol-Maßstab nach dem Phosphoramidit-DNA-Syntheseprotokoll an einem *Applied Biosystems 3400 DNA/RNA-Synthesizer* in automatisierter Festphasensynthese hergestellt. Da die Löslichkeit der Phosphoramidit-Derivate in den meisten Fällen in Acetonitril nur gering war, wurden die modifizierten Phosphoramidite zuvor in wasserfreiem CH₂Cl₂ gelöst und im Synthesizer durch Beifügung von 0.45 M Tetrazol, gelöst in Acetonitril, aktiviert. Die Kupplungszeiten für die modifizierten Phosphoramidite wurden auf 10 Minuten verlängert.^[39] Als Festphase wurden „controlled pore glass beads“ (CPG's) verwendet. Der Verlauf der Synthese wurde über die Leitfähigkeitsmessung der abgespaltenen Dimethoxytritylkationen mit einem im Gerät integrierten Detektor verfolgt. Alle Oligonukleotide wurden im „Trityl-on“-Modus synthetisiert, um eine HPLC-Reinigung vor und nach Abspaltung der DMT-Schutzgruppe durchführen zu können. Weitere Details sind im experimentellen Teil angegeben, da die Synthese im Wesentlichen den gebräuchlichen Protokollen der modernen Oligonukleotidsynthese folgt.

Der Zyklus der Phosphoramidit-basierenden Nukleotidsynthese, die über einen Zyklus von 4 Schritten verläuft, ist in Abb. 40 dargestellt. Im einleitenden Schritt der Synthese wird von der ersten Nukleobase, die bereits an der Festphase gekuppelt ist, die 5'-DMT-Schutzgruppe mit Trichloressigsäure entfernt. An die freie 5'-OH-Funktion wird im zweiten Schritt durch Katalyse mit Tetrazol ein weiterer Phosphoramiditbaustein gekuppelt. Anschließend werden die nicht umgesetzten freien 5'-OH-Funktionen mit Essigsäureanhydrid und Pyridin acetyliert (gecap). Am Ende des Zyklus wird in einem Oxidationsschritt das Phosphor(III) mit Iod in Phosphor(V) überführt, bevor das um eine Einheit verlängerte Oligonukleotid einen neuen Zyklus durchläuft.

Im Anschluss an die Synthese wurden die Oligonukleotide durch manuelle Behandlung mit 28%iger Ammoniumhydroxid-Lösung für 16 h bei 55°C von der Festphase abgespalten. Dabei wurden gleichzeitig die Cyanoethylschutzgruppen unter basischer Eliminierung

entfernt. Anschließend wurde von der Festphase filtriert und die Ammoniumhydroxid-Lösung im Vakuum entfernt.

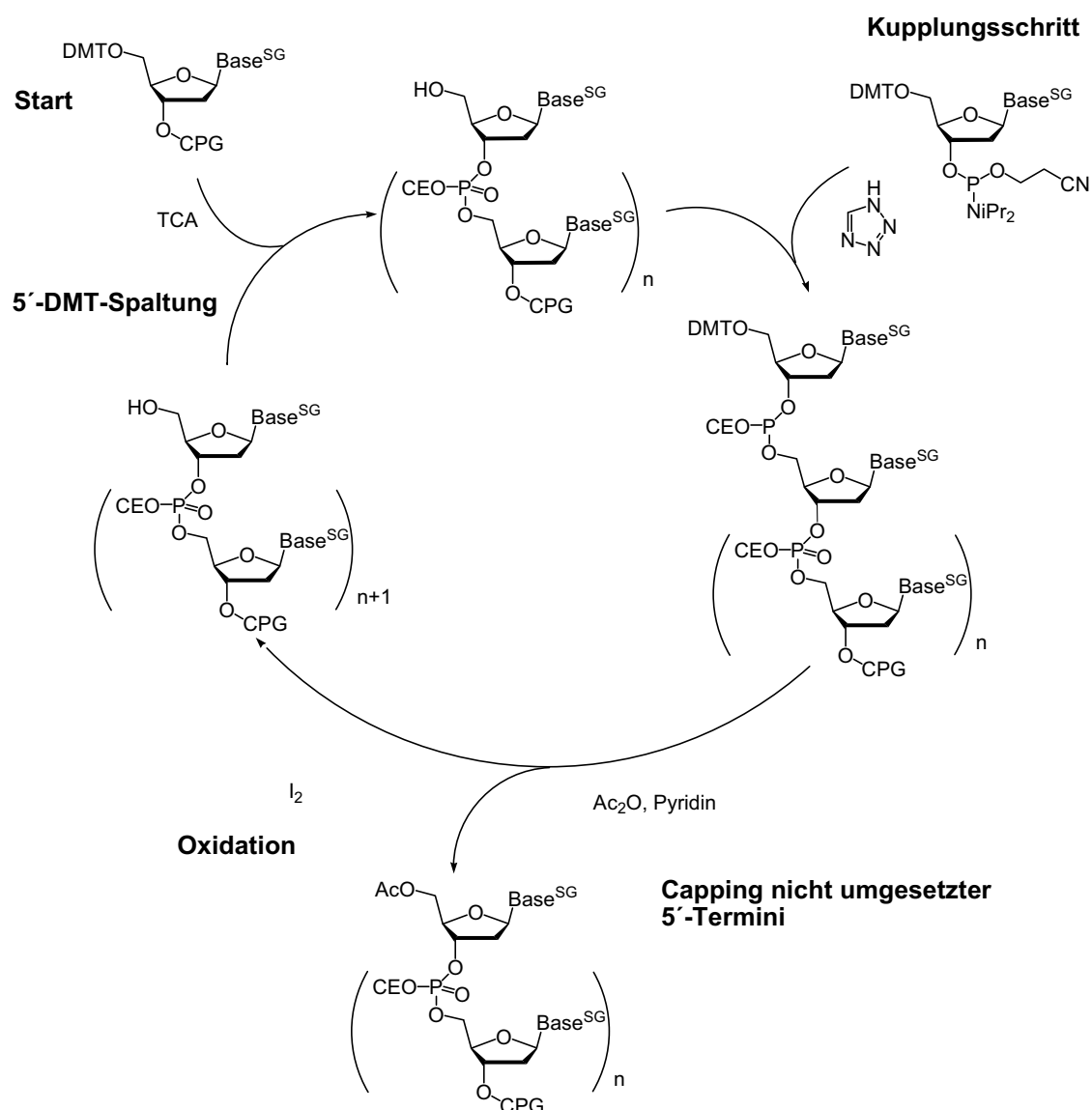


Abbildung 40: Zyklus der Phosphoramidit-DNA-Synthese.

Alle Oligonukleotide wurden über semi-präparative Umkehrphasen-HPLC (RP-HPLC) aufgereinigt, anschließend lyophilisiert und die 5'-DMT-Schutzgruppe durch Behandlung mit 80%iger Essigsäure entfernt. Durch Zugabe von Natriumacetat-Lösung und Isopropanol wurden die 5'-entschützten Oligonukleotide gefällt und wiederum durch semipräparative RP-HPLC aufgereinigt, gefriergetrocknet und in 1 ml Wasser aufgenommen. Die Bestimmung von Identität und Reinheit erfolgte über analytische RP-HPLC und MALDI-TOF-Massenspektrometrie. Die Ausbeuten der Oligonukleotide wurden über die

UV-Absorption bei 260 nm bestimmt. Abb. 41 sind exemplarisch die HPLC-Spur und das MALDI-Massenspektrum von **148g** abgebildet.

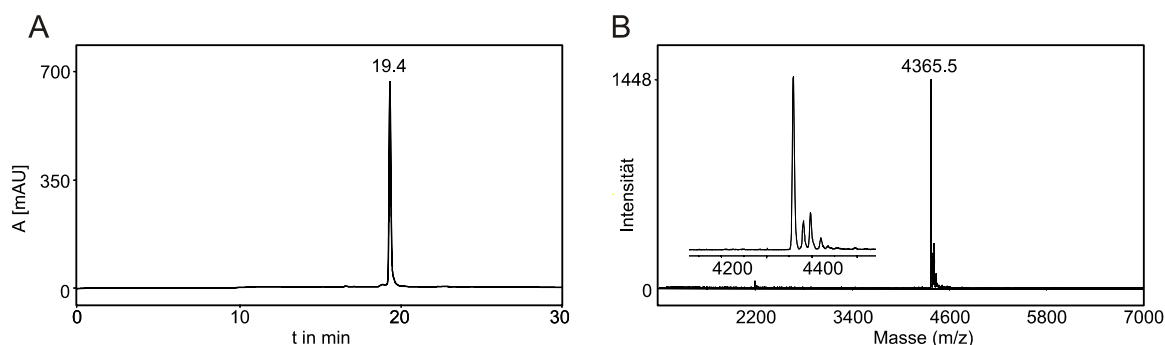
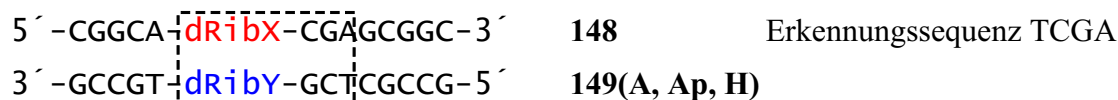


Abbildung 41: A) HPLC-Spur des aufgereinigten Oligonukleotides **148g** (5'-CGGCA-dRibX-CGAGCGGC-3', X = 2-(7-Phenyl)naphthyl). Als mobile Phase wurde ein binäres Gemisch aus A (0.1 M TEAA, pH 7.0) und B (Acetonitril) verwendet. HPLC-Bedingungen 0-1 min 3% A, 1-26 min 3-30 % A. Als stationäre Phase wurde eine *Waters Xbridge C18* 5µm 4.6x250mm bei einer Flussrate von 1.0 ml/min verwendet. B) MALDI-TOF-MS von **148g**.

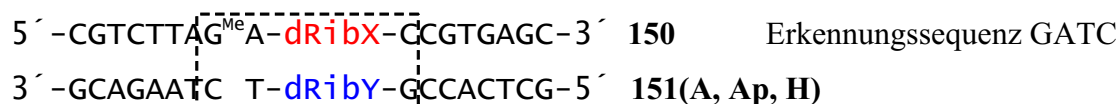
4.2.2 Design der Oligonukleotide

Für die Studien mit den DNA-Mtasen *M.TaqI* und *E.coli* Dam wurden zwei verschiedene DNA-Sequenzen (**148-149** und **150-151**) verwendet (Abb. 42). Die DNA-Mtase *M.TaqI* erkennt die Sequenz TCGA. Die Erkennungssequenz von *E.coli* Dam ist GATC. Da die Erkennungssequenzen selbstkomplementär sind, besitzen sie zwei Zielbasen (A·T-Basenpaare), die für die DNA-Methylierung geeignet sind. Bei beiden Sequenzen wurde jedoch nur ein Basenpaar, in Abb. 42 blau-rot gekennzeichnet, substituiert. Das zweite A·T-Basenpaar der Erkennungssequenz von *M.TaqI* liegt nicht methyliert vor. Methodisch ist dies nicht optimal, da sich die bestimmten Dissoziationskonstanten zumindest theoretisch von zwei Bindungsstellen ableiten können, jedoch wurde die Sequenz bereits zuvor eingesetzt und daher beibehalten.^[5] Das A·T-Basenpaar des Duplexes mit der *E.coli*-Dam-Erkennungssequenz **150-151** wurde durch die Verwendung von *N*6-Methyl-2'-desoxyadenosin modifiziert.

M. TaqI:

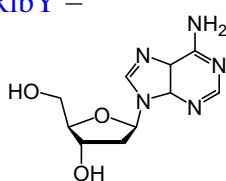


E. coli Dam



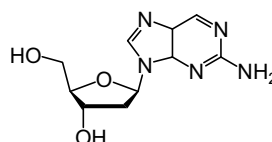
dRibX = C-Nukleoside

dRibY =



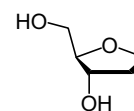
Adenosin (A)

152



2-Aminopurin (Ap)

153



dSpacer (H)

154

Abbildung 42: Oligonukleotide für die Mtase Studien. Die Erkennungssequenz ist innerhalb der Box, das Zielnukleotid für die Methylierung ist in blau gezeichnet.

Ein Thymin innerhalb der Erkennungssequenzen der Oligonukleotide **148** und **150** wurde durch die Basensurrogate (Tab. 7) ersetzt. Entsprechend der unterschiedlichen Mechanismen der beiden DNA-Mtasen unterschieden sich die ausgewählten Basensurrogate. Für die Studien an *M. TaqI* wurden polycyclische C-Nukleoside verwendet, die Stapelwechselwirkungen auch mit dem Gegenstrang bewirken sollten. Für die Studien an *E. coli* Dam wurde daneben auch eine Gruppe von Surrogaten verwendet, die bei der Bindung an die DNA-Mtase aus der DNA-Helix herausdrehen und π -Kationen-Wechselwirkungen eingehen können (vgl. Kap. 4.1.1 und 4.1.2).

An der identischen Position der gegenüberliegenden DNA-Stränge **149** und **151**, der Zielposition für die Methylierung, wurde jeweils die natürliche, zu methylierende Base Adenin **152**, 2-Aminopurin **153** oder ein synthetisches abasisches Nukleosid (ein dSpacer; **154**) eingefügt. Der umgebungssensitive Fluorophor 2-Aminopurin **153** emittiert nach Anregung mit UV-Licht bei einer Wellenlänge von $\lambda \leq 320$ nm in einer breiten Fluoreszenzbande mit einem Maximum bei $\lambda = 380$ nm. In einem DNA-Doppelstrang wird die Fluoreszenz aufgrund der Basenstapelung gelöscht. Über die Intensität der Fluoreszenz ist

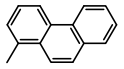

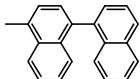

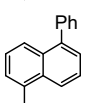
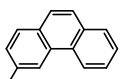
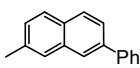
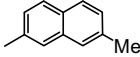
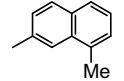
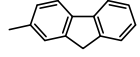
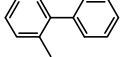
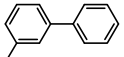
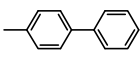




es daher möglich, Aussagen über das Entstapeln des 2-Aminopurins innerhalb eines Doppelstranges in Abhängigkeit vom C-Nukleosid zu treffen. Aufgrund seiner großen strukturellen Ähnlichkeit können die gewonnenen Ergebnisse auf Adenosin übertragen werden. Das Entstapeln von 2-Aminopurin oder Adenin ist für eine DNA-Mtase mit einem Energieaufwand verbunden und liefert einen negativen Beitrag zur Bindung, der bei einer bereits entstapelten Zielbase entfällt. Eine Beurteilung erfolgt durch den Vergleich der absoluten Fluoreszenz der verschiedenen Duplexe **148a-q·149Ap** mit einem Referenzduplex **148T·149Ap** mit einem 2-Aminopurin-Thymin-Basenpaar.

Das d-Spacer-Nukleosid **154** imitiert die in einem DNA-Mtase-DNA-Komplex auftretende scheinbare Leerstelle. Die Basenfehlstelle des Duplex **148T·149H** gegenüber nicht-modifizierten Duplexen **148T·149A** zu einer deutlichen Absenkung der Schmelztemperatur, gleichbedeutend mit einer geringeren thermodynamischen Stabilität. Die C-Nukleoside in den dSpacer-Duplexen **148a-q·149H** können die Leerstelle teilweise ausfüllen und Stapelwechselwirkungen mit dem gegenüberliegenden DNA-Strang eingehen. Die Schmelztemperatur der dSpacer-Duplexe **148·149H** dient daher als Maß für die Stabilisierung durch den Erhalt von Stapelwechselwirkungen.

4.2.3 Basenpaarungseigenschaften der Oligonukleotide

Für die oben beschriebenen Doppelstrangoligonukleotide **148·149** und **150·151** mit den verschiedenen C-Nukleosiden in einem Strang **148a-q** oder **150a-j** und Adenin, 2-Aminopurin oder dem dSpacer im gegenüberliegenden DNA-Strang **149A/Ap/H** oder **151A/Ap/H** wurde die Abhängigkeit der Duplexstabilität von der Struktur der C-Nukleoside untersucht (siehe Tab. 7 und Tab. 8). In allen Fällen zeigten die Schmelzkurven ein sigmoidales Verhalten, wie es bei einem kooperativen Schmelzvorgang zu erwarten ist. In Abb. 43 sind exemplarisch Schmelzkurven der Duplexe **148g·149A**, **148g·149Ap** und **148g·149H** und deren erste Ableitungen abgebildet. Die dominierenden, stabilisierenden Triebkräfte in den mit C-Nukleosiden modifizierten Duplexen sind die sich mit der Größe der aromatischen Gruppen verstärkenden hydrophoben Wechselwirkungen. Im Basenstapel wird die entropisch und enthalpisch ungünstigen Hydrathülle um den Aromaten vermieden.^[135] Destabilisierend auf die Duplexe wirkt hingegen im Vergleich mit einem natürlichen Basenpaar der Verlust an Wasserstoffbrücken und die mit der durch die Größe der Fläche der Aromaten verbundenen sterischen Wechselwirkungen in der helikalen B-DNA-Struktur.

Tabelle 7: Schmelzwerte der Duplexe **148·149** mit der *M.TaqI*-Erkennungssequenz.

5´-CGGCA-dRibX-CGAGCGGC-3´ 3´-GCCGT-dRibY-GCTCGCCG-5´		148 149A (Y = A), 149Ap (Y = Ap) , 149H (Y = H)			
Einzelstrang		Schmelztemperatur T _M in °C im Duplex			
X		148·149A	148·149Ap	148·149H (ΔT_M)	
148T	T	67.0	63.1	49.0	(0.0)
148a		61.8	62.4	63.1	(14.1)
148b		59.6	59.5	57.1	(8.1)
148c		56.3	57.8	57.3	(8.3)
148d		58.4	58.7	57.1	(8.1)
148e		57.4	58.9	57.9	(8.9)
148f		61.4	62.3	62.1	(13.1)
148g		61.2	64.2	61.7	(12.7)
148h		58.1	58.5	58.1	(9.1)
148i		58.4	60.0	58.9	(9.9)
148j		59.6	60.1	60.1	(11.1)
148k		59.4	58.3	56.2	(7.2)
148l		60.3	60.8	57.8	(8.8)
148m^d		57.5	59.1	59.0	(9.2) ^b
148n^d		61.0	63.5	63.6	(13.8) ^b
148o^d		59.0	58.5	57.9	(8.1) ^b
148p^d		57.2	58.0	56.0	(6.2) ^b
148q^d		58.0	58.2	57.8	(8.0) ^b

^aΔT_M bezogen auf T_M von **155T·156H**. ^bbezogen auf Literaturwert. c = 1 μM in 10mM NaH₂PO₄, 0.1 M NaCl, pH 7.0. d) aus Literatur^[5,126]

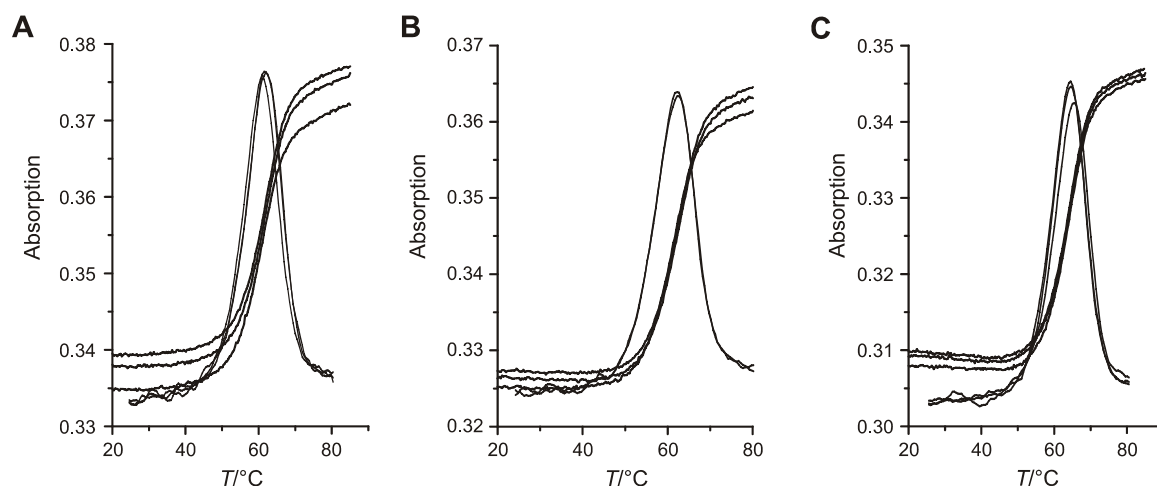


Abbildung 43: Schmelzkurven (—) und 1. Ableitung (---) der Duplexe **148g·149A** (A), **148g·149Ap** (B) und **148g·149H** (C).

Als Vergleich für **148a-q** wurde das unmodifizierte Oligonukleotid **148T** verwendet. Die Nukleotide **148m-q** sind bereits durch Seitz und Weinhold *et al.* beschrieben worden.^[5] Aus den Daten können verschiedene Tendenzen zu den Duplexen **148·149A** abgelesen werden:

1. Für den A·T-Doppelstrang (**148T·149A**) wurde eine Schmelztemperatur von 67.0°C gemessen. Die Substitution mit C-Nukleosiden führte allgemein zu einer Absenkung der Schmelzwerte zwischen 5.2°C beim 1-Phenanthryl-Duplex **148a·149A** und 10.7°C im Falle des 1,1'-Binaphthyl-Duplexes **148c·149A**.
2. Die niedrigsten T_M -Werte wurden die Oligonukleotide **148c·149A** und **148e·149A** beobachtet. Die beiden Naphthylringe des Binaphthyls stehen aufgrund einer Energiebarriere von $\approx 100\text{kJ/mol}$ rund 60 – 120° aus der Ebene verdreht.^[132] Die Duplexe **148c·149A** und **148e·149A**, deren Aromaten daher nicht planarisiert werden können, weisen mit Schmelztemperaturen von 56.3°C ($\Delta T_M = -10.7^\circ\text{C}$) und 57.4°C ($\Delta T_M = -9.6^\circ\text{C}$) die instabilsten Duplexe auf. Wahrscheinlich sind die äußeren Arylgruppen in die große Furche eingebettet. Sterische Zwänge erfordern dadurch einen zusätzlichen Energieaufwand während der Duplexbildung.
3. Die Phenanthrenyl-Duplexe **148a·149A** und **148f·149A** und der Pyrenyl-Duplex **148n·149A** sind durch ihre Größe in der Lage, den Raum eines einzelnen Basenpaares auszufüllen (Abb. 44A) und erreichen eine überdurchschnittliche Duplexstabilität ($\Delta T_M = -5.2^\circ\text{C} - -6.0^\circ\text{C}$). Der 2-(7-Phenyl)naphthyl-Duplex **148g·149A** ($\Delta T_M = -5.8^\circ\text{C}$) erreicht eine vergleichbare Stabilität. Die zu

- erwartende Verdrängung des Adenins bzw. die Aufweitung des Duplexdurchmessers spielt für die Stabilität des Duplex eine untergeordnete Rolle.
4. Die nicht modifizierten 1-Naphthyl und 2-Naphthyl-Duplexe **148p·149A** und **148q·149A** führen zu einer Reduktion der Schmelztemperatur um 9.0 bzw. 9.8°C im Vergleich zu **148T·149A**.
 5. Die Duplexe **148b·149A** und **148d·149A** mit Methylnaphthylsubstituenten in Richtung der großen Furche sind im Vergleich mit dem 1-Naphthyl-Duplex **148p·149A** um 2.4°C bzw. 1.2°C stabilisiert.
 6. Die Duplexe **148h·149A** und **148i·149A** mit Methylnaphthylsubstituenten unterscheiden sich in ihrer Stabilität nur geringfügig von 2-Naphthyl-Duplex **148q·149A**. Die Methylgruppe kann über hydrophobe Wechselwirkungen auf die Duplexe stabilisierend, oder durch sterische Abstoßung destabilisierend wirken. Beide Einflussfaktoren spielen eine untergeordnete Rolle.
 7. Es gibt keine erkennbaren systematischen Unterschiede in der Duplexstabilität zwischen 1-Naphthyl- (**148a-e·149A**, **148o-p·149A**) und 2-Naphthyl-basierenden (**148f-i·149A**, **148q·149A**) Oligonukleotiden (Gruppen A und B, Abb. 25).
 8. Die nicht planar zueinander stehenden Phenylgruppen der *ortho*-Biphenylfunktion von **148k·149A** bewirken mit einem T_M von 59.4°C ($\Delta T_M = -7.6^\circ\text{C}$) keine ausgeprägte Destabilisierung. Da die Fläche eines einzelnen Phenylringes für die Basenstapelwechselwirkungen sehr gering ist, erfolgt die Duplexbildung vermutlich ohne Verdrängung des gegenüberliegenden Adenins, während die äußere Phenylgruppe in Richtung der kleinen Furche zeigt.
 9. Der *meta*-Biphenyl-Duplex **148l·149A** ($T_M = 60.3^\circ\text{C}$) könnte, wie von Leumann *et al.* für *para*-Biphenyl beschrieben,^[64] unter teilweiser Planarisierung Stapelwechselwirkungen mit dem gegenüberliegenden DNA-Strang eingehen. Die Schmelztemperatur des in analoger Position zum *para*-Biphenyl angebundenen Fluoren-Duplex **148j·149A** von $T_M = 59.6^\circ\text{C}$ deutet darauf hin, dass der Energieaufwand für eine vollständige Planarisierung des Biphenylsystems im Gegensatz zur Position der Anbindung nur eine untergeordnete Rolle für die Stabilisierung hat. Es ist denkbar, dass diese im *meta*-Biphenyl-Duplex **148l·149A** ausbleibt.

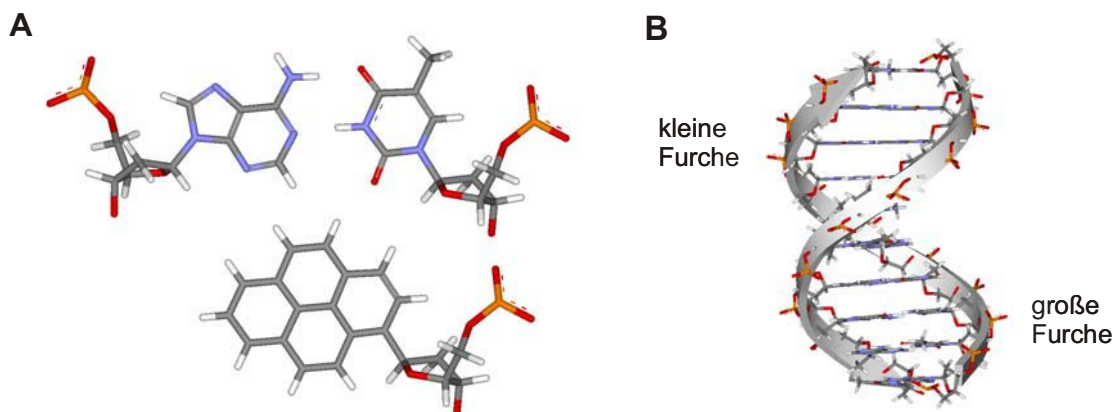


Abbildung 44: A) Größenvergleich eines A·T-Basenpaares mit einem Pyrennukleosid **90** (*trans*-Rotamer). B) Ideale B-DNA-Helix. Erkennbar sind die kleine und die große Furche, die „unterhalb“ und „oberhalb“ der Nukleobasen verlaufen.

In den Duplexen **148a-q·149Ap** mit dem Adenin-Analogon 2-Aminopurin sind meist nur geringe Abweichungen gegenüber **148a-q·149A** von weniger als $\Delta T_M = \pm 1^\circ\text{C}$ zu beobachten. Die Grundtendenzen bleiben erhalten. Der Schmelzwert des Referenzduplexes **148T·149Ap** ist mit 63.1°C rund 4°C niedriger als die Schmelztemperatur von **148T·149A** ($T_M = 67.0^\circ\text{C}$). Daher sind die auf **148T·149Ap** bezogenen ΔT_M entsprechend geringer. Adenin und 2-Aminopurin unterscheiden sich nur in der Position einer einzelnen Aminofunktion. Diese Aminofunktion zeigt bei den Adenin-haltigen Duplexen **148·149A** in Richtung der großen Furche, bei den 2-Aminopurin-haltigen Duplexen **148·149Ap** in Richtung der kleinen Furche. Daher interagieren Adenin und 2-Aminopurin mit den räumlich anspruchsvollen C-Nukleosiden unterschiedlich. Eine deutliche Stabilisierung der 2-Aminopurin-haltigen Duplexe gegenüber den korrespondierenden Adenin-haltigen Duplexen wurde bei den räumlich anspruchsvollen nicht planaren (1,1')-Binaphthyl- und 1-(5-Phenyl)naphthyl-Duplexen **148c·149Ap** ($T_M = 57.8^\circ\text{C}$; ΔT_M gegenüber **148c·149A** = $+1.5^\circ\text{C}$) und **148e·149Ap** ($T_M = 58.9^\circ\text{C}$; ΔT_M gegenüber **148e·149A** = $+1.5^\circ\text{C}$) beobachtet. Diese Duplexe könnten von der fehlenden Aminofunktion in Richtung der großen Furche profitieren. Die Schmelztemperaturen des bereits in der Basenpaarung mit Adenin besonders stabilen 2-(7-Phenyl)naphthyl-Duplexes **148g·149Ap** ($T_M = 64.2^\circ\text{C}$; ΔT_M gegenüber **148g·149A** = $+3.0^\circ\text{C}$) und des Pyren-Duplexes **148n·149Ap** ($T_M = 63.5^\circ\text{C}$; ΔT_M gegenüber **148n·149A** = $+2.5^\circ\text{C}$) erhöhen sich deutlich. Sofern 2-Aminopurin oder Adenin durch die sterisch anspruchsvollen Basensurrogate aus ihrer Position im Basenstapel verdrängt werden, werden sie wahrscheinlich möglichst viele, energetisch günstige Stapelwechselwirkungen beibehalten und sich nicht vollständig aus dem Duplex herausdrehen. Vermutlich kann sich 2-Aminopurin

aufgrund der Position der Aminogruppe günstiger einordnen als Adenin, ohne in sterische Konflikte zu geraten. Eine alternative Interpretation der Ergebnisse basierend auf dem Unterschied der Polarität von Adenosin und 2-Aminopurin ist dagegen unwahrscheinlich, da beide Nukleobasen in einer neutralen Umgebung nicht protoniert werden. Die pK_a -Werte betragen 3.6 für Adenosin und 3.4 für 2-Aminopurin.^[160] Eine polarere Gruppe hätte bei einer Positionierung in der wässrigen Umgebung einen Vorteil. Der *ortho*-Biphenyl-Duplex **148k·149Ap** ($T_M = 58.3^\circ\text{C}$; ΔT_M gegenüber **148k·149A** = -1.1°C) ist destabilisiert, da die äußere Phenylfunktion Richtung der 2-Aminogruppe des 2-Aminopurins zeigt.

Im Duplex **148T·149H** wird T einer Basenfehlstelle gegenüber gestellt. Die Schmelztemperatur beträgt 49.0°C , eine Verringerung um 18.0°C gegenüber **148T·149A**. Das Thymidin aus **148T** kann die Lücke im Basenstrang **149H** nicht effektiv stabilisieren, die entweder als Bruch in der Basenstapelung verbleibt oder eine energieaufwendige Umorganisation der Nukleobasen zur Folge hat. Ein, um das zentrale A·T-Basenpaar verkürzter Referenzduplex in dem keine Unterbrechung der Basenstapelung erfolgt, erreicht hingegen eine Schmelztemperatur von 64.8°C , gegenüber **148T·149A** nur eine Verringerung von 2.2°C .

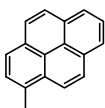
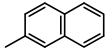
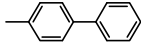



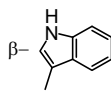
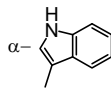

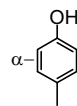
Die Duplexe **148a-q·149H** mit dem dSpacer-C-Nukleosid-Basenpaar weisen im Vergleich mit **148T·149H** deutlich höhere Schmelztemperaturen auf, die in vielen Fällen relativ wenig von den entsprechenden Schmelztemperaturen der Duplexe **148a-q·149A** abweichen. Der Zusammenhang zwischen Größe des π -Systems der planaren C-Nukleoside und der Duplexstabilität führt dazu, dass der 1-Naphthyl-dSpacer-Duplex **148p·149H** eine Schmelztemperatur von 56.0°C aufweist, während der 1-Phenanthrenyl-dSpacer-Duplex **148a·149H** ($T_M = 63.1^\circ\text{C}$) und der 1-Pyrenyl-dSpacer-Duplex **148n·149H** ($T_M = 63.6^\circ\text{C}$) die Stabilität von **148T·149Ap** mit dem 2-Ap·T-Basenpaar erreichen. Bemerkenswert ist der Anstieg der Schmelztemperaturen gegenüber den mit Adenin gepaarten Duplexen **148a·149A** um 2.3°C und **148n·149A** um 1.3°C , die darauf hindeuten, dass Adenin, welches als Zielbase der DNA-Mtasen im DNA-Enzym-Komplex aus dem Duplex herausgedreht ist, in diesen Duplexen einen destabilisierenden Einfluss hat. In den 1-Naphthyl-basierenden Duplexen **148b·149A**, **148d·149A**, **148o·149A** und **148p·149A** haben die Stapelwechselwirkungen des Adenins einen stabilisierenden Einfluss, der in den korrespondierenden dSpacer-Duplexen **148(a, d, o, p)·149H** durch die kleineren C-Nukleoside aufgrund der, im Vergleich mit einem Basenpaar geringeren Größe, nicht kompensiert werden kann. Dadurch werden die Schmelztemperaturen um $1.1^\circ\text{C} - 2.5^\circ\text{C}$ abgesenkt. Besonders ausgeprägt ist der stabilisierende Effekt des Adenins

im nichtplanaren *meta*-Biphenyl-Duplex **148l·149A** (ΔT_M gegenüber **148l·149H** = +2.5°C) und dem *ortho*-Biphenyl-Duplexes **148k·149A** (ΔT_M gegenüber **148k·149H** = +3.1°C). Die Interkalation des auf einem planarisierten Biphenyl- π -System beruhenden Fluorens in den Basenstapel von **148j·149H** führt zu einem relativ stabilen Duplex mit einer Schmelztemperatur von 60.1°C. Der Fluoren-dSpacer-Duplex **148j·149H** (ΔT_M gegenüber **148j·149A** = +0.5°C) profitiert thermodynamisch von der Eliminierung des Adenins. Der Fluoren-dSpacer-Duplex **148j·149H** ist in Abhängigkeit von der Position der Anbindung an die 2-Desoxy-D-Ribose gegenüber den drei Biphenyl-dSpacer-Duplexen **148k·149H**, **148l·149H** und **148m·149H**, um bis zu 3.9°C stabilisiert. Das scheint plausibel, wenn vom *ortho*-Biphenyl über das leicht planarisierbare *para*-Biphenyl zum vollständig planaren Fluoren eine zunehmende Tendenz zur Teilnahme an der Basenstapelung, zur Kompensation des fehlenden Adenins, zugrunde gelegt wird.

Bei den Oligonukleotiden **150·151** mit der *E.coli*-Dam-Erkennungssequenz wurde eine Beeinflussung des Schmelzverhaltens durch die zu **148·149** verschiedene Basensequenz beobachtet (Tab. 8). Der unmodifizierte Duplex **150T·151A** weist eine Schmelztemperatur von 60.6°C auf. Der dSpacer-modifizierte Duplex **150T·151H** hat eine Schmelztemperatur von 48.3°C. Dies entspricht einer Reduktion um 11.7°C. Offenbar fällt hier die Störung durch die unterschiedliche Sequenz und die größere Anzahl von Basenpaaren im Vergleich mit **148T·149H** weniger stark ins Gewicht. Bei diesem betrug die Reduktion der Schmelztemperatur durch den dSpacer 18.0°C, obwohl die direkt benachbarten Basenpaare identisch sind. Die Oligonukleotide **150a-c** haben mit dem 1-Pyrenyl- **148n**, dem *para*-Biphenyl- **148m** und dem 2-Naphthyl-Oligonukleotid **148q** identisch modifizierte Analoga, die für einen direkten Vergleich geeignet sind. Die Beeinflussung der thermodynamischen Stabilität durch die C-Nukleoside scheint nicht von der Sequenz abzuhängen. Die Duplexe von **150a-c** mit **151A** und **151H** haben alle gegenüber **150T·151A** eine ähnlich stark reduzierte Schmelztemperatur wie die analogen Sequenzen gegenüber **148T·149A**. So ist die Schmelztemperatur des Pyren-Duplexes **150a·151A** mit 54.4°C um 6.2°C geringer als von **150T·151A** (**148n·149A** ΔT_M = -6.0°C gegenüber **148T·149A**). Auch zwischen den einzelnen modifizierten Duplexen sind die Schmelztemperaturdifferenzen vergleichbar. Bezogen auf den dSpacer-Duplex **150T·151H** fallen die ΔT_M -Werte entsprechend geringer aus. So erreicht der 1-Pyrenyl-dSpacer-Duplex **150a·151H**, der stabilste unter den abasischen Duplexen **150a-j·151H** ein ΔT_M von +7.2°C. Der 2-Naphthyl-dSpacer-Duplex **150c·151H** erreicht nur

ein ΔT_M von $+2.4^\circ\text{C}$. Beim 2-Naphthyl-dSpacer-Duplex **148q**•**149H** betrug die Stabilisierung zum Vergleich $\Delta T_M = +8.0^\circ\text{C}$. Die Oligonukleotide **150g** und **150h** unterscheiden sich durch die Anbindung des Indols an das Basenrückgrat. Es wurde ein unter basischen Bedingungen instabiles α,β -Epimerengemisch **147c** in der DNA-Synthese eingesetzt und **150g** und **150h** über HPLC getrennt. Die auf Indol, Phenol und der 3-Methylbenzylgruppe basierenden Nukleobasensurrogate sind deutlich kleiner als die bisher verwendeten Aromaten.

Tabelle 8: Schmelzwerte der Duplexe **150**•**151** mit *E.coli*-Dam-Erkennungssequenz.

5' -CGTCTTAG ^{Me} A-dRibX-CCGTGAGC-3' 150 3' -GCAGAATC T-dRibY-GCCACTCG-5' 151A (Y = A), 151Ap (Y = Ap), 151H (Y = H)					
Einzelstrang		Schmelztemperatur T_M in $^\circ\text{C}$ im Duplex			
	X	150•151A	150•151Ap	150•151H	$(\Delta T_M)^a$
150T	T	60.6	58.2	48.3	(0.0)
150a		54.4	55.5	55.5	(7.2)
150b		51.6	51.9	50.7	(2.4)
150c		52.0	51.9	51.1	(2.8)
150d		50.0	49.2	47.5	(-0.8)
150e		48.2	48.2	46.6	(-1.7)
150f		50.2	49.8	49.2	(0.9)
150g		49.7	48.7	48.3	(0.0)
150h		49.2	48.2	47.3	(-1.0)
150i		52.7	49.0	45.4	(-2.9)
150j		52.0	48.6	48.5	(0.2)

^a ΔT_M bezogen auf T_M von **150T**•**151H**. $c = 1 \mu\text{M}$ in 10mM NaH_2PO_4 , 0.1 M NaCl, pH 7.0.

Die Duplexe mit den großflächigeren Aromaten **150a-c·150A** und **150a-c·151H** haben tendenziell höhere Schmelztemperaturen als die Duplexe **150d-j·151A** und **150d-j·151H** mit den kleineren Aromaten. Auffällig ist die im Verhältnis hohe Stabilität der Duplexe **150i·151A** und **150j·151A**, die Phenol beinhalten. Diese sind im Vergleich mit dem Phenyloxynukleosid-Duplex **150e·151A** rund 4°C stabiler. Es erscheint plausibel anzunehmen, dass die Duplexe durch die *para*-ständige OH-Gruppe, die eine Wasserstoffbrücke zur Aminofunktion des Adenins ausgebildet, stabilisiert werden.

4.2.4 Fluoreszenzstudien mit 2-Aminopurin

Das 2-Aminopurin **153** ist ein umgebungsabhängiger Fluorophor. Dabei deutet im Kontext von DNA eine hohe Fluoreszenz auf einen Verlust an Stapelwechselwirkungen hin. Eine Entstapelung bedeutet jedoch nicht zwangsläufig, dass das 2-Aminopurin um 180° aus dem Duplex herausgeklappt werden muss. Auch durch die Positionierung in einer Furche oder durch eine lokale Streckung des Duplex kann mit einer Erhöhung der 2-Aminopurin-Fluoreszenz einhergehen (Abb. 45). So haben Seitz *et al.* an den Duplexen **148m-q·149Ap** Fluoreszenzmessungen in Gegenwart des Fluoreszenzlöschers Acrylamid durchgeführt.^[126] Dieser löscht lediglich die Fluoreszenz von 2-Aminopurinmolekülen, die aus der DNA-Helix herausgedreht und somit zugänglich sind. Der *para*-Biphenyl-Duplex **148m·149Ap** erreichte in Abwesenheit von Acrylamid 54 % der Fluoreszenz des Einzelstranges **149Ap** (Abb. 46). Die Abhängigkeit der Fluoreszenz dieses Duplexes von der Konzentration von Acrylamid ist im Vergleich zu den anderen Duplexen **148o-q·149Ap** deutlich geringer. Es existiert offenkundig ein Gleichgewicht zwischen innerhelikalen und außerhelikalen Zuständen nicht basengestapelten 2-Aminopurins, welches bei **148m·149Ap** deutlich zugunsten innerhelikaler Zustände verschoben ist.

Die Fluoreszenzemissionsspektren wurden in 1 µM Lösung in einem wässrigen Puffer aus 10mM NaH₂PO₄, 0.1 M NaCl, 15mM MgCl₂ bei pH 7.0 gemessen. MgCl₂ als divalenter Ligand führt zu einer Versteifung der Duplexe und bewirkt eine Vergrößerung der Unterschiede zwischen der Fluoreszenzintensität einzelner Duplexe. Alle Duplexe zeigten ein charakteristisches Emissionsprofil (Abb. 45B). Die Duplexe **148(a, c, e, f, g, m)·149Ap** und **150a·158Ap** mit Pyren, Phenanthren, Binaphthyl und Phenyl-naphthyl konnten aufgrund der intensiven Eigenfluoreszenz der polycyclischen Aromaten nicht für die Messungen genutzt werden. Die Fluoreszenzspektren der Oligonukleotide werden im Spektrenanhang gezeigt.

Das Indol der Duplexe **157f-h·158A** fluoresziert bei Anregung bei $\lambda = 260$ nm mit einem Maximum bei $\lambda = 360$ nm. Bei Anregung oberhalb von $\lambda = 300$ nm ist die Fluoreszenz zu vernachlässigen. Die relative Fluoreszenz von 2-Aminopurin in den Duplexen **148·149Ap** bei 370 nm wird in Abb. 46 bezogen auf die Fluoreszenz von **149Ap** angegeben. Anhand der ermittelten Daten konnte kein allgemeingültiger, direkter Zusammenhang zwischen der Fluoreszenz und den Schmelztemperaturen ermittelt werden.

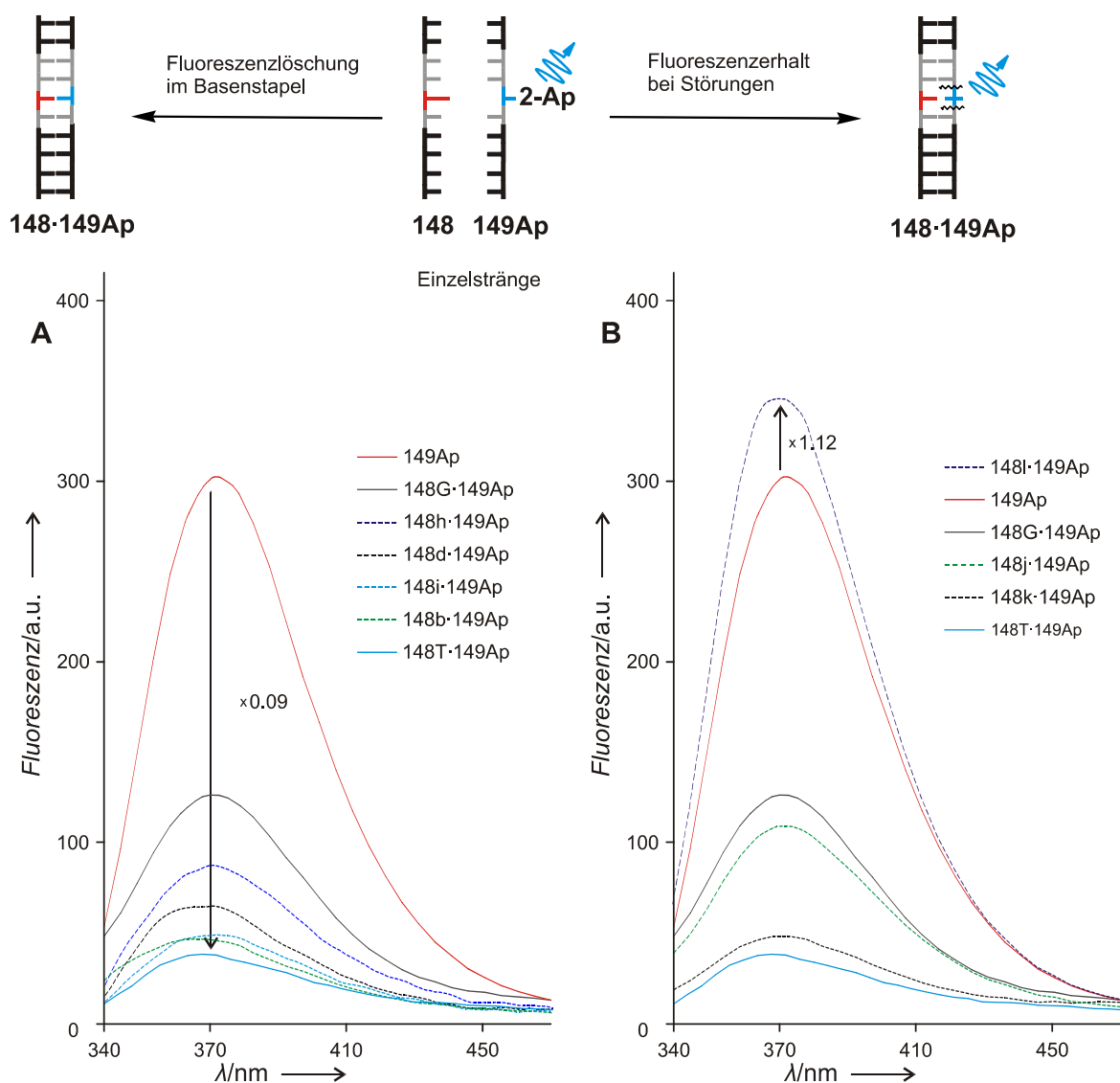


Abbildung 45: Fluoreszenz von 2-Aminopurin. ┐ = C-Nukleosid. ~ = keine Stapelung. A) Fluoreszenzspektren des Oligonukleotides **149Ap**, der Duplexe **148(G,T)·149Ap** und der Methylnaphyl-substituierten Duplexe **148(b,d,h,i)·149Ap**. Die Biphenyl-substituierten Duplexe **148(j,k,l)·149bAp** sind unter B abgebildet. $c = 1 \mu\text{M}$ in 10 mM NaH_2PO_4 , 0.1 M NaCl, 15 mM MgCl_2 , pH 7.0, 25°C , $\lambda_{\text{ex}} = 305$ nm.

Der Duplex **148T·149Ap**, der erwartungsgemäß am besten in den Basenstapel integriert ist, wird am stärksten fluoreszenzgelöscht ($F = 0.09$). Demgegenüber führt der fehlgepaarte Duplex **148G·149Ap** ($T_M = 56.1^\circ\text{C}$) zu einem Fluoreszenzanstieg um 360 % ($F = 0.41$). Die durch die Basenfehlpaarung bedingte Destabilisierung, eine als „Aufweichen“ bezeichnete Sollbruchstelle des Basenstapels im Bereich des 2-Aminopurins, führt zu einer verringerten Besetzung basengestapelter Zustände. Die C-Nukleosid-Duplexe führen ebenfalls durchweg zu einem Fluoreszenzanstieg gegenüber **148T·149Ap**. Die Fluoreszenz des 1-Naphthyl-Duplex **148p·149Ap** jedoch nur um 70 % erhöht ($F = 0.15$). Obwohl die Wasserstoffbrücken fehlen, hat dieser Duplex eine rund 2°C höhere Schmelztemperatur als **148G·149Ap**. Dies ist ein Hinweis auf eine, durch stärkere Stapelwechselwirkungen im Bereich der Fehlpaarung bedingte, geringere Flexibilität, die vermutlich eine geringere Anzahl von gegenüber Acrylamid empfindlichen 2-Aminopurin-Molekülen außerhalb der Basenstapelung zur Folge hat.^[126] Die Methylnaphthyl-Duplexe **148b·149Ap**, **148d·149Ap** und **148i·149Ap** weichen nicht signifikant in ihrer Fluoreszenz ab. Der 2-(7-Methylnaphthyl)-Duplex **148h·149Ap** fluoresziert hingegen doppelt so intensiv ($F = 0.30$). Die Position der Methylgruppe weist direkt in Richtung des gegenüberliegenden Duplex und verdrängt vermutlich 2-Aminopurin aus seiner optimalen Position im Basenstapel.

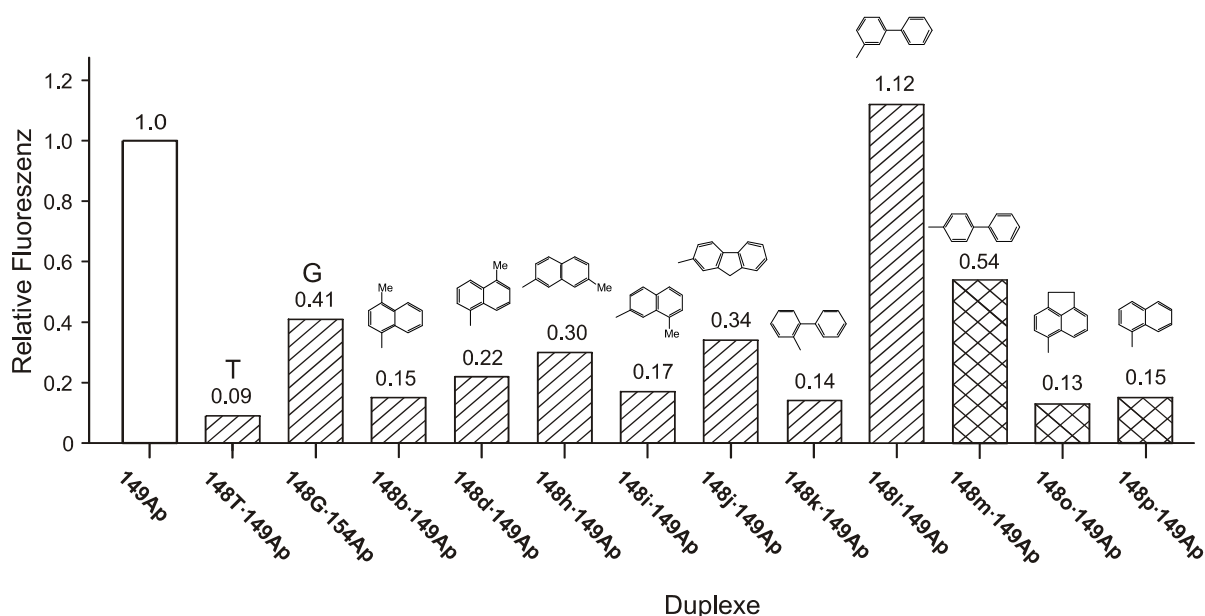


Abbildung 46: Relative 2-Aminopurin-Fluoreszenz F der Duplexe **148·149Ap** bezogen auf **149Ap**. $c = 1 \mu\text{M}$ in $10 \text{ mM NaH}_2\text{PO}_4$, 0.1 M NaCl , 15 mM MgCl_2 , $\text{pH } 7.0$, 25°C , Anregung $\lambda_{\text{ex}} = 305 \text{ nm}$, Emission $\lambda_{\text{em}} = 370 \text{ nm}$, Mittelwerte aus Doppelbestimmung, die mit Kreuzmuster gefüllten Balken wurden in der Literatur angegeben.^[126]

Der *ortho*-Biphenyl-Duplex **148k·149Ap** zeigt nur einen geringen Fluoreszenzanstieg ($F = 0.14$) gegenüber **148T·149Ap**. Die äußere Phenylgruppe des *ortho*-Biphenyls befindet sich außerhalb des Basenstapels und erlaubt somit vermutlich dem 2-Aminopurin eine weitgehend ungestörte Teilnahme an der Basenstapelung. Damit unterscheidet sich das *ortho*-Biphenyl, wie bei den Schmelztemperaturen in seinem Verhalten deutlich von den anderen Biphenylen. Bemerkenswerterweise fluoresziert der *meta*-Biphenyl-Duplex **148l·149Ap** stärker als der Einzelstrang **149Ap** ($F = 1.12$). Demzufolge ist in diesem Fall das 2-Aminopurin besonders stark entstapelt. Eine analoge, wenn auch schwächer ausgeprägte Beobachtung wurde bereits beim *para*-Biphenyl-Duplex **148m·149Ap** gemacht. Die äußeren Phenylgruppen des *meta*- und des *para*-Biphenyls werden in den Basenstapel miteinbezogen. Leumann *et al.* haben mittels NMR-Spektroskopie aufgeklärt, wie sich zwei gegenüberliegende *para*-Biphenyle unter Streckung des DNA-Duplex und Reduktion der Helizität, übereinander legen.^[64] Der Duplex besitzt in dem modifizierten Bereich eine hohe Dynamik. Die Rotation der Phenylringe ist laut den Autoren bei 271 K nicht eingefroren. Es ist vorstellbar, dass die Position eines Phenylringes vom 2-Aminopurin übernommen wird, welches dann, aufgrund der Beweglichkeit des Biphenyls, zu Teilen in nichtgestapelte Zustände gezwungen wird. Die Annahme aus Kap. 4.2.3, dass der *meta*-Biphenyl-Duplex **148l·149Ap** im Mittel aufgrund des erhöhten Energieaufwandes weniger planarisiert ist, müsste zu einer verringerten Dynamik führen, während der Duplex im Bereich der Störung gestreckt ist. Dies müsste aber mit einer Schwächung der Stapelung mit den Nachbarbasenpaaren einhergehen. Das 2-Aminopurin **153** könnte somit aufgrund einer lokalen Streckung in eine ungünstige Position gezwungen werden, wodurch der Fluoreszenzanstieg gegenüber **148m·149Ap** bewirkt wird. Im planarisierten Fluoren-Duplex **148j·149Ap** ist die Fluoreszenz hingegen deutlich reduziert, da die Bewegung der Phenylringe unterbunden ist.

Das einzelsträngige Oligonukleotid **151Ap**, welches von den Nukleobasen ^{Me}A und C flankiert wird, ist deutlich weniger fluoreszent als **149Ap**, mit den Nachbarbasen A und C. Die Fluoreszenzemission der Duplexe **150T·151Ap**, **150b·151Ap** und **150c·151Ap** ist hingegen in Relation weitgehend unverändert zu ihren Analoga **148(T,b,c)·149Ap**.^[126] Die unterschiedliche Bezugsgröße schlägt sich auf die relative 2-Aminopurin-Fluoreszenz in Form größerer Zahlenwerte für die Duplexe **150·151Ap** nieder (Abb. 47). Die 2-Aminopurin-Fluoreszenz der Duplexe **150d-j·151Ap** ist gegenüber **150T·151Ap** um den Faktor 2.7 – 16.7 erhöht.

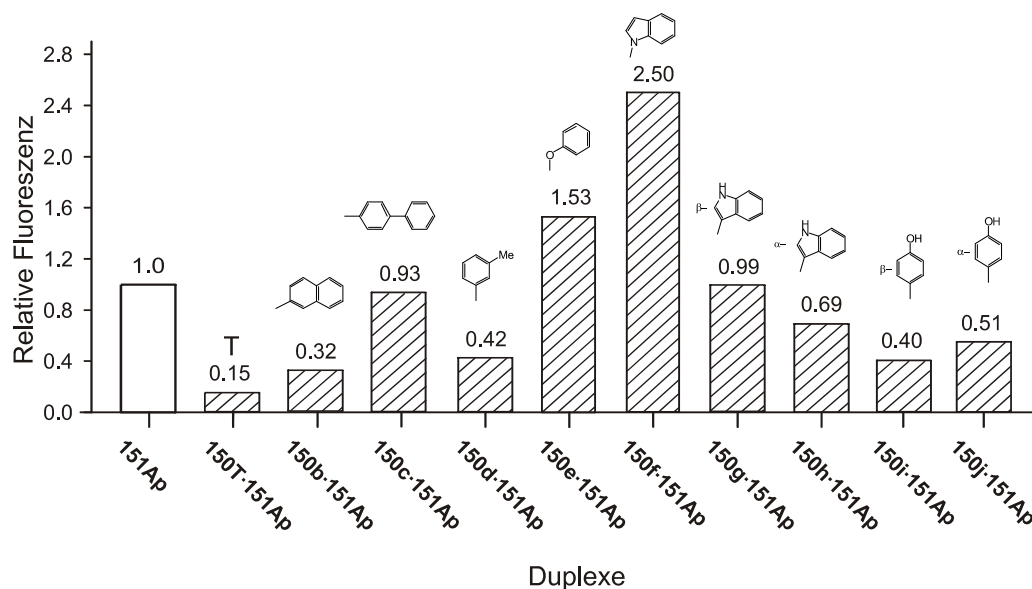


Abbildung 47: Relative 2-Aminopurin-Fluoreszenz F der Duplexe **150-151Ap** bezogen auf **151Ap**. $c = 1 \mu\text{M}$ in 10 mM NaH_2PO_4 , 0.1 M NaCl, 15 mM MgCl_2 , pH 7.0, 25°C , Anregung $\lambda_{\text{ex}} = 305 \text{ nm}$, Emission $\lambda_{\text{em}} = 370 \text{ nm}$, Mittelwerte aus Doppelbestimmung (Fluoreszenzspektren siehe Anhang).

Die Fluoreszenz des *N*-Indol-Duplexes **150f-151Ap** übertrifft sogar den *meta*-Biphenyl-Duplex **148l-149Ap**. Auch die Fluoreszenz der Duplexe **150d-151Ap** und **150i-151Ap** übertrifft die Fluoreszenz des *ortho*-Biphenyl-Duplex **148k-149Ap** um $\approx 60 \%$, obwohl dieser nur mit einer Phenylgruppe in der Basenpaarung involviert ist. Die Fluoreszenz von **150h-151Ap** entspricht in etwa der Fluoreszenz von **148G-149Ap**. Vor dem Hintergrund, dass die Nukleoside ausgewählt wurden, um π -Kation-Wechselwirkungen zu ermöglichen und keine stabilisierende Funktion im Duplex zu übernehmen, erscheinen diese Ergebnisse sinnvoll. Da elektronenreiche Aromaten, im Gegensatz zu elektronenarmen Aromaten, mit elektronenreichen Nukleobasen keine besonders starken Stapelwechselwirkungen eingehen und aufgrund der auf Indol und Phenol basierenden Basensurrogate, die eine geringe Größe und Hydrophobizität aufweisen, resultiert im Bereich der Störung eine starke Aufweichung des Duplex. Daher könnte das fehlgepaarte Basenpaar im Gleichgewicht vollständig aus dem Duplex herausgedreht werden. Die vorhandene Lücke würde durch Kompression des Duplex geschlossen, während der Fluorophor eine besonders intensive Fluoreszenzemission aufweist. So zeigt bemerkenswerterweise der *N*-Indol-Duplex **150f-151Ap** im Vergleich mit den *C*-Indol-Duplexen **150g-h-151Ap** einen deutlichen Zusammenhang zwischen Entstapelung und Fluoreszenz des 2-Aminopurins mit der thermodynamischen Stabilität des Duplex ($T_M = 49.8^\circ\text{C}$ gegenüber 48.7°C und 48.2°C).

4.2.5 Zusammenfassung der Ergebnisse der Bindungsstudien an *M.TaqI* und *E.coli* Dam-Methyltransferase

Die Bindungsstudien wurden durch die Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Elmar Weinhold durchgeführt. Zur Bestimmung der Dissoziationskonstanten wurde ein kompetitiver Bindungsassay verwendet, welcher auf der Umgebungsabhängigkeit der Fluoreszenz von Pyren im Duplex **148n•149A** bei den Oligonukleotiden **148a-x•149A** mit *M.TaqI*-Zielsequenzen bzw. von 2-Aminopurin im Duplex **150T•151Ap** bei den Oligonukleotiden **150a-j•151A** mit *E.coli*-Dam-Sequenzen basierte. Die Fluoreszenz der Fluorophor-modifizierten Oligonukleotide wird, durch die Hybridisierung zweier komplementärer Oligonukleotide gelöscht. Die Bindung der DNA-Mtase *M.TaqI* führt zu einer teilweisen Wiederherstellung der Fluoreszenz. Durch die Konkurrenz mit einem weiteren nichtfluoreszenten Oligonukleotid kommt es bei der Zugabe einer DNA-Mtase zu einer Verzögerung des Fluoreszenzanstieges, aus der die Dissoziationskonstante K_D berechnet werden kann.

Die mittels Fluoreszenztitration in Gegenwart von **148T•149A** gegen *M.TaqI* ermittelte Dissoziationskonstante K_D des Pyren-Duplexes **148n•149A** betrug 37 pM. Dies entspricht einer 90fach höheren Bindungsaffinität im Vergleich mit dem unmodifizierten Duplex **148T•149A**. Die meisten der C-nukleosidisch modifizierten Duplexe **148a-j•149A** banden deutlich effektiver an *M.TaqI*. Die Dissoziationskonstante lag im Bereich $K_D = 4.0 - 6700$. Der 2-(7-Phenyl)naphthyl-Duplex **148g•149A** war hingegen mit einer Dissoziationskonstante K_D von 6700 pM ein besonders schlechter Binder. (Abb. 48). Interessanterweise erreichten die Mtase-DNA-Komplexe mit kleineren Surrogaten wie 2-Naphthyl **148q•149A**, 1-Naphthyl **148p•149A** oder *para*-Biphenyl **148m•149A** ($K_D = 4.0$ pM, 5.4 pM, 5.7 pM) die höchsten Stabilitäten. Obwohl bei der Bildung des *M.TaqI*-DNA-Komplexes keine Seitenkette des Enzyms in die DNA insertiert wird (vgl. Kap. 4.1.1), können die größeren Basen wie Pyren ($K_D = 37$ pM) oder Fluoren ($K_D = 18$ pM) die größere Fähigkeit zur Basenstapelung nicht nutzen.

Die Bindung der Oligonukleotide an *E.coli* Dam erfolgt nach einem von der *M.TaqI*-Bindung deutlich abweichenden Mechanismus. Die Seitenketten von Tyrosin und Asparagin sind in den Duplex insertiert und die Partnerbase T wird entweder über Wasserstoffbrücken zum Asparagin stabilisiert oder in einer eigenen Bindungstasche außerhalb des Duplex positioniert.^[94] Im Einklang mit diesem Größenausschlusskriterium kommt es zu keiner stabilen Bindung des Pyren-Duplexes **150a•151A** an *E.coli* Dam (Abb. 49).

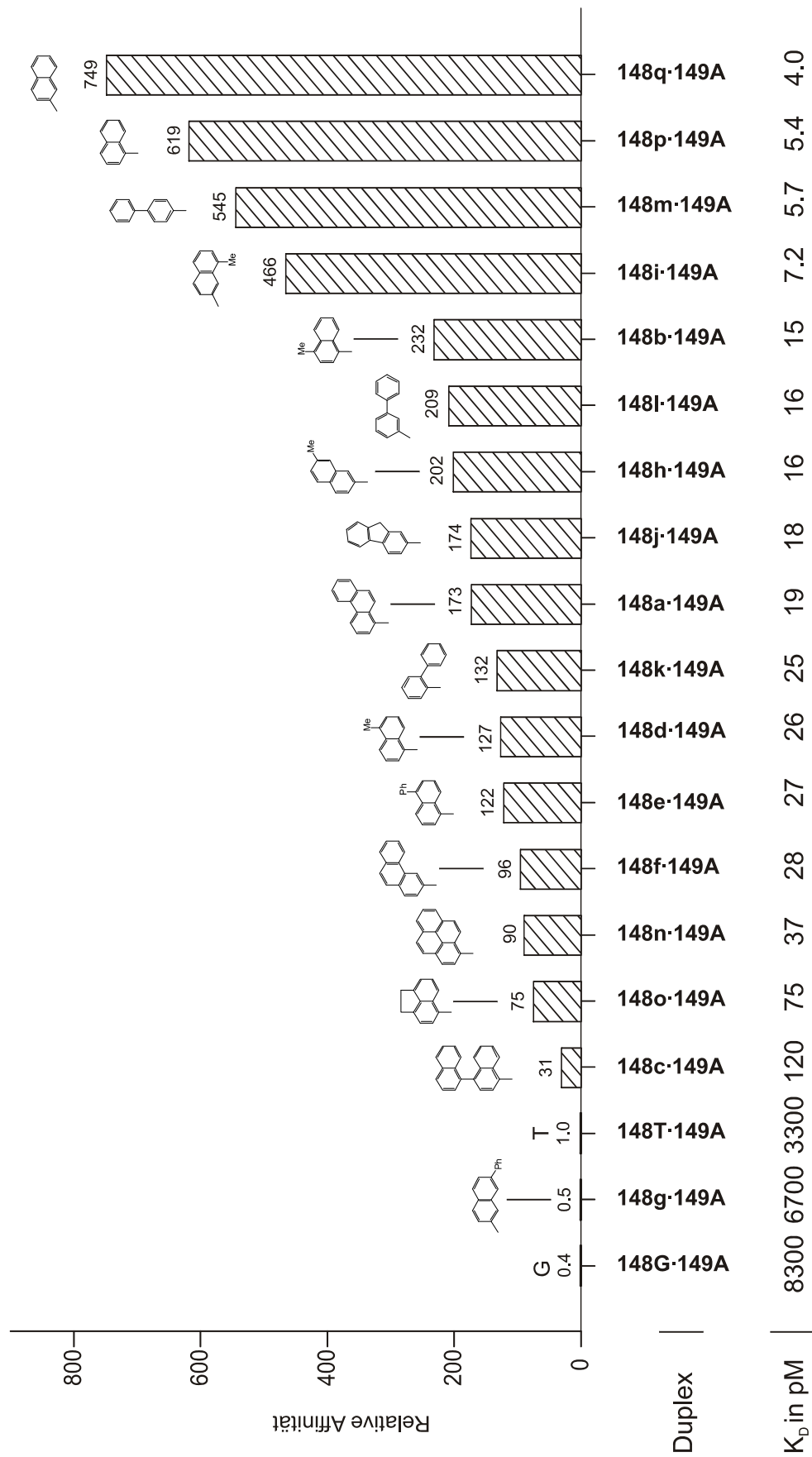


Abbildung 48: Relative Affinität der Duplexe **148-149A** an *M. TaqI* bezogen auf **148T-149A**, ermittelt aus den kompetitiven Fluoreszenztitrationen mit 500 nM des zu untersuchenden ODN-Duplex und 50 nM des Pyren-Duplex **148n-149A** in NEB4-Puffer und 0.01 % Triton-X100.

Der Duplex **150T·151A**, auf den die relativen Affinitäten bezogen sind, wird mit Dissoziationskonstanten von $K_D = 39.7$ nM gebunden. Die Bindung des fehlgepaarten Duplexes **150G·151A** ist mit einem $K_D = 29.9$ nM nur wenig stärker. Bei den modifizierten Duplexen **150b-j·151A** wurden, wenn auch weniger ausgeprägt, wie bei den *M.TaqI*-Bindern **148·149** höhere Bindungsaffinitäten ($K_D = 11.0$ nM – 2.9) beobachtet. Umgerechnet beträgt die Differenz der molaren freien Standardreaktions-enthalpie ($\Delta\Delta G_{25^\circ\text{C}} = -RT\ln(K_{D1}/K_{D2})$) der *E.coli*-Dam-Bindung gegenüber **150T·151A** maximal -6.5 kJ (zum Vergleich: **148q·149A** gegenüber **148T·149A** -16.4 kJ).

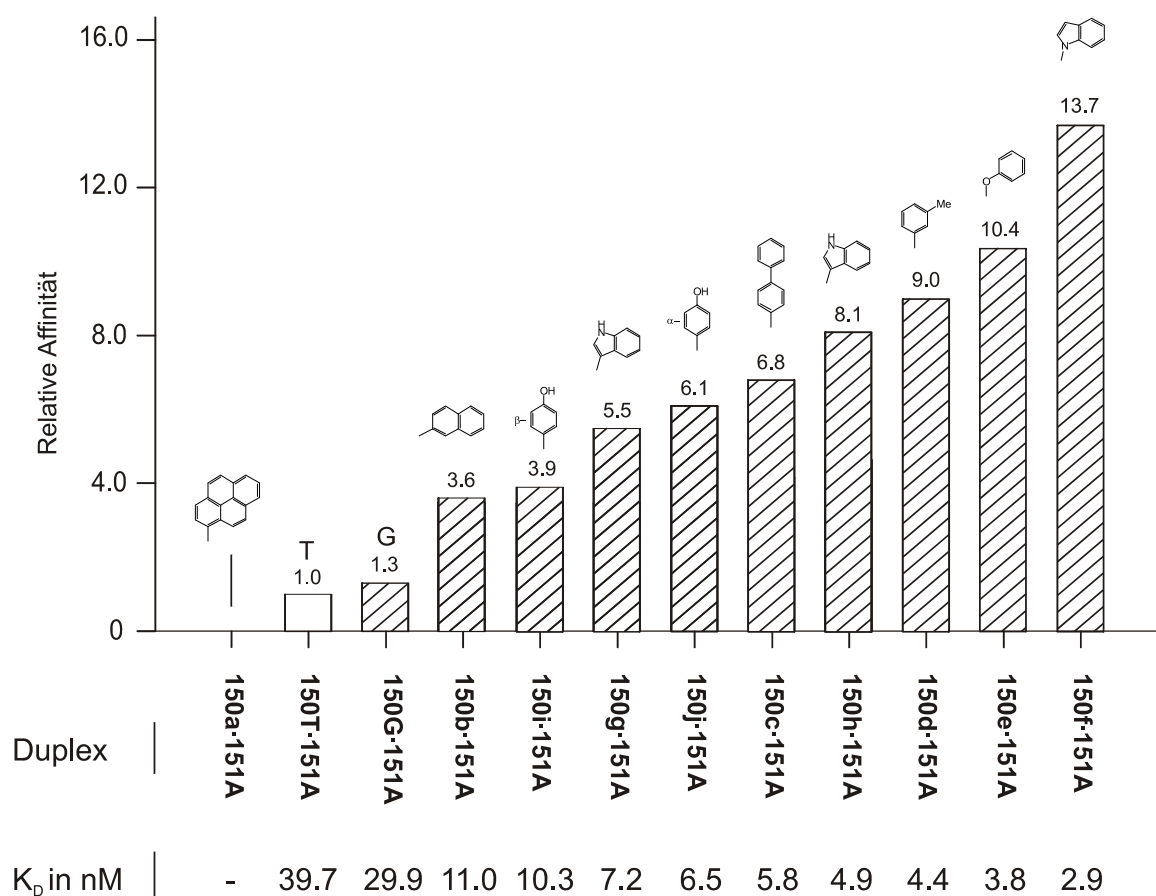


Abbildung 49: Relative Affinität der Duplexe **150·151A** an *E.coli* DAM bezogen auf **150T·151A**, ermittelt aus den kompetitiven Fluoreszenztitrationen in NEB4-Puffer und 0.01 % Triton-X100.

Anhand der 2-Aminopurin-Fluoreszenz wurde insbesondere für den *N*-Indol-Duplex **150f·151A** das Herausdrehen des Indol·T-Basenpaares aus dem Duplex vermutet. Dies entspräche einer stärkeren Vororientierung der DNA in Richtung des *E.coli*-Dam-Komplexes. Der *N*-Indol-Duplex besaß die höchste Bindungsaffinität ($K_D = 2.9$ nM) und war stabiler als die für den direkten Vergleich interessanten *C*-Indol-Duplexe **150g·151A** ($K_D = 7.2$ nM) und **150h·151A** ($K_D = 4.9$ nM). Die hohe Bindungsaffinität stützt daher diese Vorstellung. Die,

durch die Phenolfunktion bewirkte Fähigkeit zur Ausbildung von Wasserstoffbrücken, die sowohl im Duplex mit der Partnerbase Adenin als auch im Komplex mit *E.coli* Dam mit Asparagin gebildet werden könnte, trägt nicht zur Stabilisierung bei. Die Phenol-Duplexe **150i•151A** ($K_D = 10.3 \text{ nM}$) und **150j•151A** ($K_D = 6.5 \text{ nM}$) erreichten im Vergleich mit den ähnlich voluminösen 3-Methylphenyl-Duplex **150d•151A** ($K_D = 4.4 \text{ nM}$) und dem Phenyl-*O*-Glycosid-Duplex **150e•151A** ($K_D = 3.8 \text{ nM}$) geringere Bindungsaffinitäten.

In *M.TaqI*-DNA-Komplexen lässt sich durch Überbrücken der Leerstelle mit Basensurrogaten eine um bis zu 750fach erhöhte Bindungsaffinität erzielen. In Übereinstimmung mit der Arbeitshypothese gelang es auch bei *E.coli*-Dam-DNA-Komplexen, trotz des abweichenden Mechanismus der DNA-Mtase, der mit einem Einfügen einer Aminosäureseitenkette des Enzyms in die DNA verbunden ist, durch eine geeignete Auswahl der Basensurrogate eine 13.7fache Steigerung der Bindungsaffinität zu erzielen.

4.2.6 Kristallstruktur von *M.TaqI* im Komplex mit 1-Pyrenyl- und 2-Naphthyl-modifizierten Oligonukleotiden

Um die Ursachen der starken Bindung der modifizierten Oligonukleotide zu ergründen, wurden zusätzlich durch Elmar Weinhold und Axel Scheidig zu den Bindungsstudien zwei Kristallstrukturen von Oligonukleotiden mit 1-Pyrenyl- und 2-Naphthylsurrogaten im Komplex mit *M.TaqI* angefertigt. Die Kristallstrukturen sind nahezu identisch. Naphthalin steht im Zentrum des Basenstapels und überbrückt die „scheinbare Leerstelle“, des aus dem Duplex herausgedrehten Adenosins. Es erfolgen sowohl Intra- als auch Interstrangbasenstapelwechselwirkungen (Abb. 50 und Abb. 51).

Pyren (Abb. 52B) steht nicht in einer idealen Position in der Mitte des Basenstapels. Seitenketten des Enzyms befinden sich auf der Seite der großen Furche und erzwingen eine Verlagerung des Pyrens in Richtung der kleinen Furche, wodurch zwei Phenylringe des Pyrens analog zum Naphthylsystem positioniert werden. Die zwei zusätzlichen Phenylringe werden in Richtung der kleinen Furche gezwungen. Anhand einer NMR-Struktur haben Kool *et al.* gezeigt, dass sich das Pyrennukleosid, sofern kein Zwang ausgeübt wird, innerhalb des DNA-Duplex positioniert.[161] Vermutlich bewirkt die Verlagerung der aromatischen Fläche im *M.TaqI*-DNA-Komplex gegenüber der ungebundenen DNA energetisch ungünstige hydrophobe Wechselwirkungen mit den Wassermolekülen, wodurch der Komplex weniger stabilisiert ist.

Die zwei Kristallstrukturen der modifizierten Oligonukleotide im Komplex mit *M.TaqI* unterscheiden sich in mehreren Punkten von der Kristallstruktur des Komplexes mit nicht modifizierter DNA (Abb. 24). Die beiden Surrogate Pyren und Naphthalin werden nicht so stark wie das verwaiste T des Zielbasenpaares in Richtung des gegenüber liegenden DNA-Stranges geschoben.

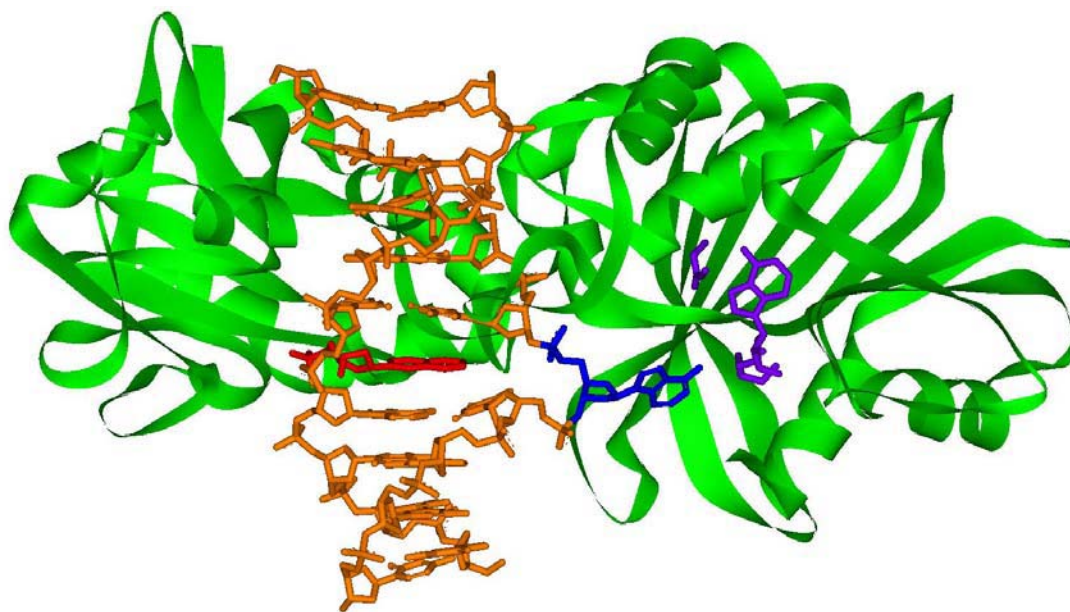


Abbildung 50: Kristallstruktur von 2-Naphthyl-DNA **148q·149A** im Komplex mit *M.TaqI*.

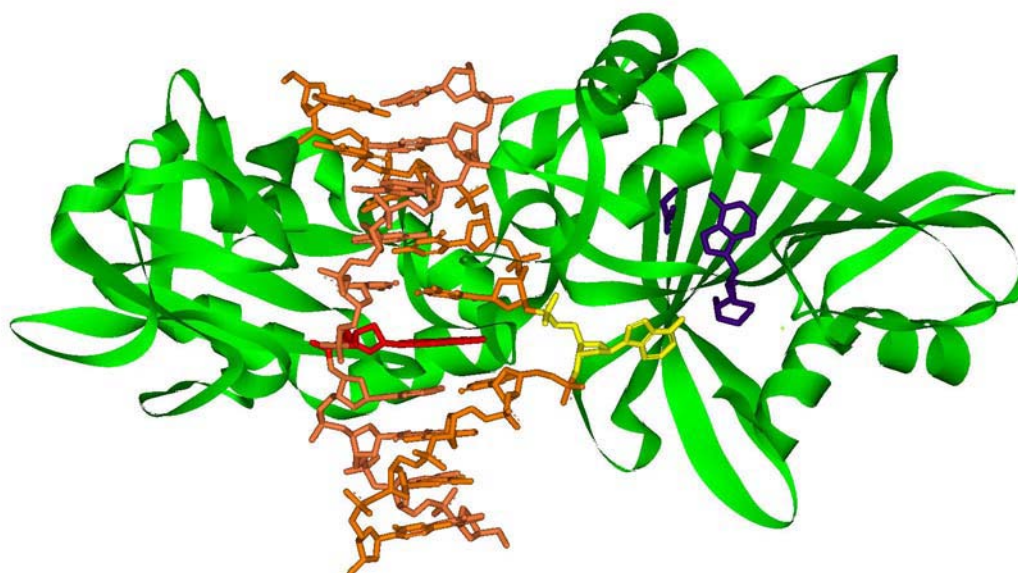
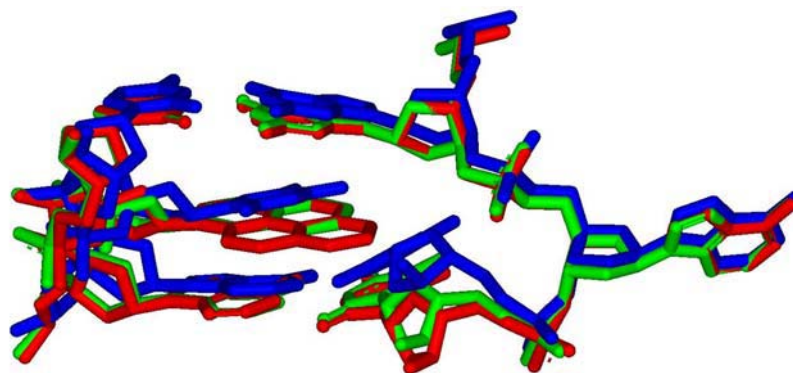


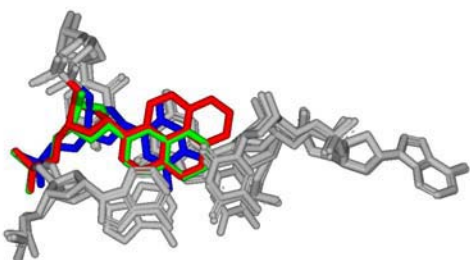
Abbildung 51: Kristallstruktur von 1-Pyrenyl-DNA **148n·149A** im Komplex mit *M.TaqI*. (Farbschema: grün *M.TaqI*, violett Cofaktoranalogen, orange Oligonukleotide, gelb A-T-Basenpaar, rot Pyrennukleosid und gelb komplementäres Adenosin)

Es besteht eine Störung des benachbarten A·T-Basenpaares in 3'-Richtung zum herausgedrehten Adenin (Abb. 52A+C, unteres Basenpaar). Das T wird aus seiner Position in Richtung der Lücke geschoben. Dies führt zu einem Verlust der Stapelwechselwirkungen. Die im Vergleich geringere Störung der helikalen B-DNA-Struktur des 2-Naphthyl-Duplex(148q·149A)-*M.TaqI*-Komplexes erklärt zumindest teilweise die hohe Bindungsaffinität an *M.TaqI*. Mit Hilfe des 2-Naphthylsurrogates kann eine energetisch günstige Brücke geschaffen werden, ohne gleichzeitig neue Kosten in Kauf nehmen zu müssen.

A)



B)



C)

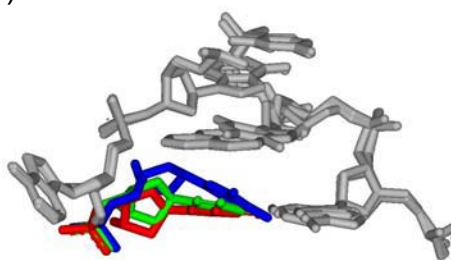


Abbildung 52: Ausschnitt aus den Kristallstrukturen Abb. 24, 50 und 51 (blau unmodifiziert, rot Pyren-substituiert, grün Naphthyl-substituiert): Überlagerung der Zielbasenpaare und der Nachbarbasenpaare aus Blickrichtung der kleinen Furche (A), Ansicht von „unten“ (B) und benachbartes Thymin (C).

4.2.7 Strukturelle Interpretation

Das wichtigste Ergebnis der Bindungsstudien an *M.TaqI* ist der deutliche Unterschied der Bindungsaffinität zwischen dem fehlgepaarten heteroaromatischen Duplex **148G·149A** ($K_D = 8300$ pM) und den C-nukleosidisch modifizierten Duplexen **148a-q·149A** ($K_D \geq 4 \leq 6700$ pM). Hauptursache hierfür ist wahrscheinlich die hohe Tendenz der C-Nukleoside Stapelwechselwirkungen mit den benachbarten Nukleobasen einzugehen. Bei einigen Oligonukleotiden mit relativ geringen Bindungsaffinitäten ist offensichtlich die hydrophobe Fläche

zu weit ausgedehnt worden. So zeigt die äußere Phenylgruppe des 2-(7-Phenyl)naphthyl-Duplexes **148g·149A** ($K_D = 6700$ pM) sehr weit in Richtung des gegenüberliegenden DNA-Stranges und würde ohne eine strukturelle Umorientierung der DNA kollidieren. Die äußere Naphthylgruppe des Binaphthyl-Duplexes **148c·149A** würde, falls die innere Naphthylgruppe in analoger Position zu der Naphthylgruppe des 2-Naphthyl-Duplex **148q·149A** läge, mit den Seitengruppen des Enzyms konkurrieren.

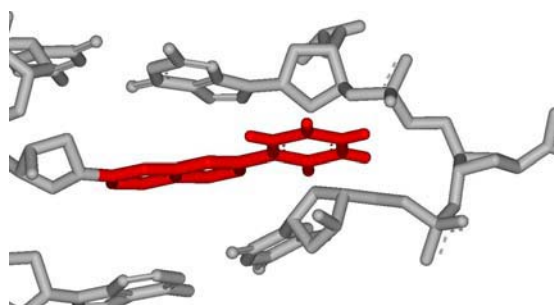


Abbildung 53: Ausschnitt von aus von der Kristallstruktur von 2-Naphthyl-DNA **148q·149A** modelliertem 2-(7-Phenyl)naphthyl-Duplex **148g·149A** im Komplex mit *M.TaqI*.

Ein direkter Zusammenhang zwischen der Fluoreszenz des 2-Aminopurins (Kap. 4.2.4), dem Maß für die Entstapelung der Zielbase im Duplex und der Dissoziationskonstante ist nicht erkennbar. Der *meta*-Biphenyl-Duplex **148l·149Ap**, welcher eine besonders intensive 2-Aminopurin-Fluoreszenz aufweist, ist zwar ein guter, aber kein herausragender Binder für *M.TaqI*. Auch innerhalb der Reihe der Methylnaphthyl-substituierten Duplexe **148·149Ap** besteht kein Zusammenhang zwischen der Fluoreszenz und der Bindungsaffinität der entsprechenden Duplexe **148T·149A**. Folglich scheint die Verdrängung der Zielbase aus dem Basenstapel nur eine untergeordnete Rolle für die Stabilisierung der DNA-Enzym-Komplexe zu spielen.

Carsten Krichel und Matthias Bahr aus der Arbeitsgruppe von Prof. Elmar Weinhold haben die Zusammenhänge zwischen den Dissoziationskonstanten der *M.TaqI*-DNA-Komplexe und den Schmelztemperaturen der Duplexe **148a-q·149A** betrachtet.^[162] In Abb. 54 ist die Korrelation zwischen den Schmelztemperaturen der abasisch modifizierten Duplexe **148a-q·149H** und den Dissoziationskonstanten der Duplexe **148a-q·149A** an *M.TaqI* dargestellt. Die als Ausreißer **148c·149H**, **148g·149H** und **148o·149H** angenommenen Duplexe wurden ignoriert. Die Schmelztemperatur der Duplexe **148a-q·149H** sollte eine Aussage über die Stabilisierung der Leerstelle über Stapelwechselwirkungen erlauben und die Stabilisierungsfähigkeit durch das Basensurrogat am wenigsten verfälscht wiedergeben.

Tatsächlich korrelieren jedoch die instabilsten Duplexe **148·149H** mit den höchsten Bindungsaffinitäten. Somit wird ein umgekehrter Zusammenhang zwischen Fläche des Aromaten und thermodynamischer Stabilität des Komplexes beobachtet. Bezogen auf alle betrachteten Duplexe gibt es eine schwache Korrelation. Das Bestimmtheitsmaß R^2 beträgt bei einer exponentiellen Beschreibung 0.336, bei einer linearen Beschreibung $R^2 = 0.295$.

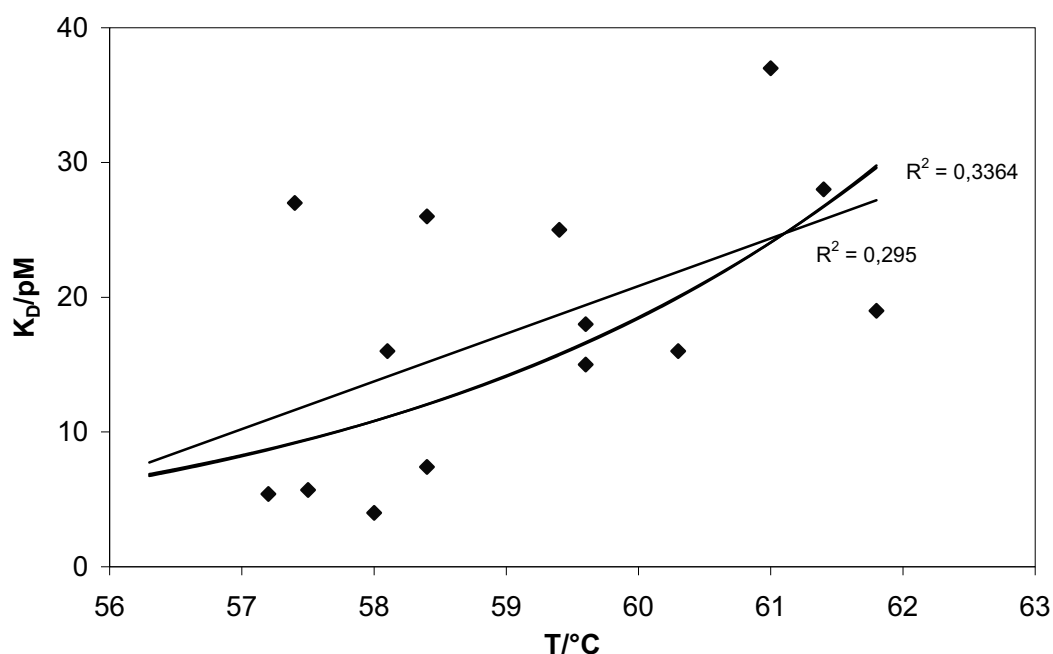


Abbildung 54: Korrelation zwischen der Stabilität der Duplexe **148a-q·149H** und den Dissoziationskonstanten der Duplexe **148a-q·149A**.

Werden nur die K_D -Werte der Verbindungen **148·149A** betrachtet, die von der 2-Naphthylstruktur ausgehen, und mit den Duplexen **148·149H** verglichen, ist der Trend eindeutiger zu erkennen (Abb. 55). Das Bestimmtheitsmaß beträgt bei einer exponentiellen Beschreibung 0.724, bei einer linearen Beschreibung 0.880. In Kap. 4.2.6 wurde anhand der Kristallstrukturen dargelegt, dass primär eine Naphthyleinheit zur Stabilisierung der 2-Naphthyl und 1-Pyrenyl-Enzym-*M.TaqI*-Komplexe beiträgt. Größere Surrogate liefern keinen zusätzlichen Beitrag zur Stabilisierung. Sie besitzen jedoch im ungebundenen Duplex zusätzliche Stapelwechselwirkungen, die während der Bindung an *M.TaqI* verloren gehen. Daher hat der Pyren-modifizierte Duplex **148n·149A** die geringste Affinität innerhalb dieser Auswahl. Das 2-(7-Methyl)naphthylsurrogat aus **148h·149A** bewirkt eine überdurchschnittliche Destabilisierung. Der DNA-Enzym-Komplex wird wie beim 2-(7-Phenyl)naphthyl-Duplex **148g·149A** durch Wechselwirkungen mit dem gegenüberliegenden DNA-Strang destabilisiert.

Als Ursache der besonderen Eignung der Naphthyl-Duplexe **148q·149A** und **148q·149A** als Binder an *M.TaqI* kann ein Zusammenspiel aus starken Stapelwechselwirkungen mit den Nachbarbasen, dem Vermeiden hydrophober Wechselwirkungen in der kleinen Furche und minimierten ungünstigen sterischen Wechselwirkungen mit dem Enzym und dem gegenüberliegenden Oligonukleotid angenommen werden.

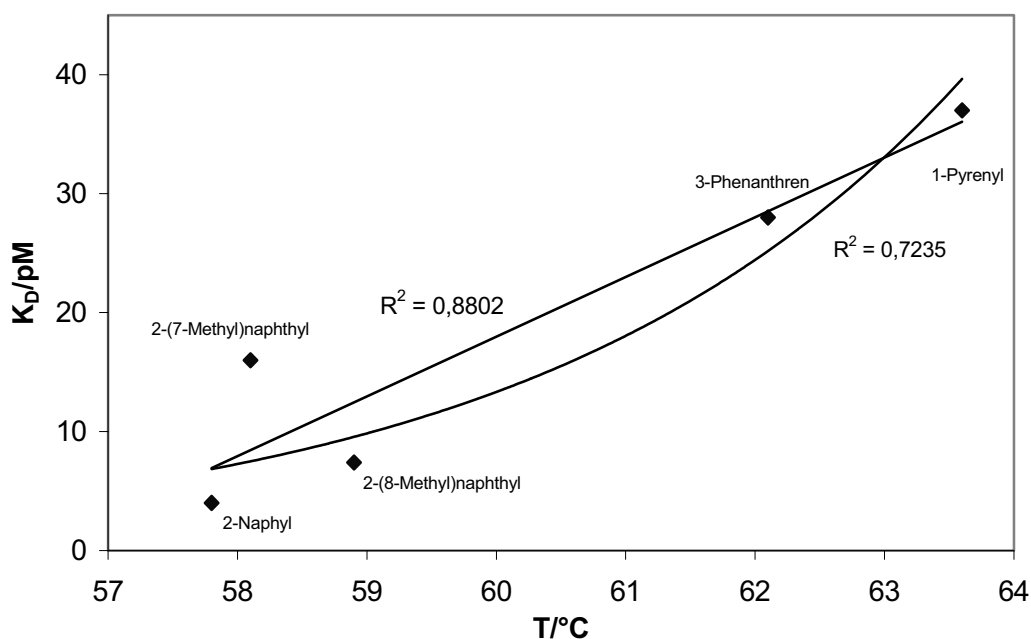


Abbildung 55: Korrelation zwischen der Stabilität der auf einer 2-Naphthyl-Grundstruktur beruhenden Duplexe **148(f, h, i, m, q)·149H** und den Dissoziationskonstanten der Duplexe **148(f, h, i, m, q)·149A**.

Auch die Bindung von *E.coli* Dam an Oligonukleotide konnte durch die Verwendung von Basensurrogaten gesteigert werden. Dabei scheinen jedoch andere Einflussfaktoren eine dominierende Rolle besitzen. Die Fähigkeit zur Rettung der Basenstapelung ist bei der Bindung an *E.coli* Dam vermutlich von untergeordneter Bedeutung. Daher erwiesen sich, anstelle der bei *M.TaqI* als am besten identifizierten Basensurrogate Naphthyl und *para*-Biphenyl, die entsprechenden Oligonukleotide **150·151A** mit tendenziell kleineren Basensurrogate als die besseren Binder. Ein auffälliger Unterschied zu den *M.TaqI*-DNA-Komplexen ist die Korrelation zwischen der Dissoziationskonstante der Duplexe **150b-j·151A** und der 2-Aminopurinfluoreszenz der Duplexe **150b-j·151Ap**. Es besteht ein direkter Zusammenhang zwischen der Entstapelung des 2-Aminopurins und der Bindung an *E.coli* Dam (Abb. 56).

Weiterhin gibt es, wie bei den Oligonukleotiden mit *M.TaqI*-Erkennungssequenz, eine umgekehrte Korrelation zwischen der Schmelztemperatur der Duplexe **150b-j·151A** und der thermodynamischen Stabilität der Duplexe **150b-j·151A**. Die Korrelation ist jedoch mit einem Bestimmtheitsmaß von 0.490 nicht besonders stark. Bei näherer Betrachtung existieren zwei Gruppen von Oligonukleotiden innerhalb derer kein Zusammenhang mehr besteht (Abb. 57). Zu der thermodynamisch stabileren Gruppe gehören der 2-Naphthyl-Duplex **150b·151A**, der *para*-Biphenyl-Duplex **150c·151A** sowie die beiden Phenol-Duplexe **150i·151A** und **150j·151A**. Die stabileren Duplexe, deren Schmelztemperatur im Mittel rund 2°C höher ist, weisen eine relative Bindungsaffinität von 3.6 – 6.8 gegenüber **150T·151A** auf. Die relative Bindungsaffinität der instabileren Duplexe beträgt hingegen zwischen 5.5 – 13.7. Die Aufweichung des Duplex ist in diesen Beispielen wahrscheinlich die Hauptursache der gesteigerten Bindungsaffinität.

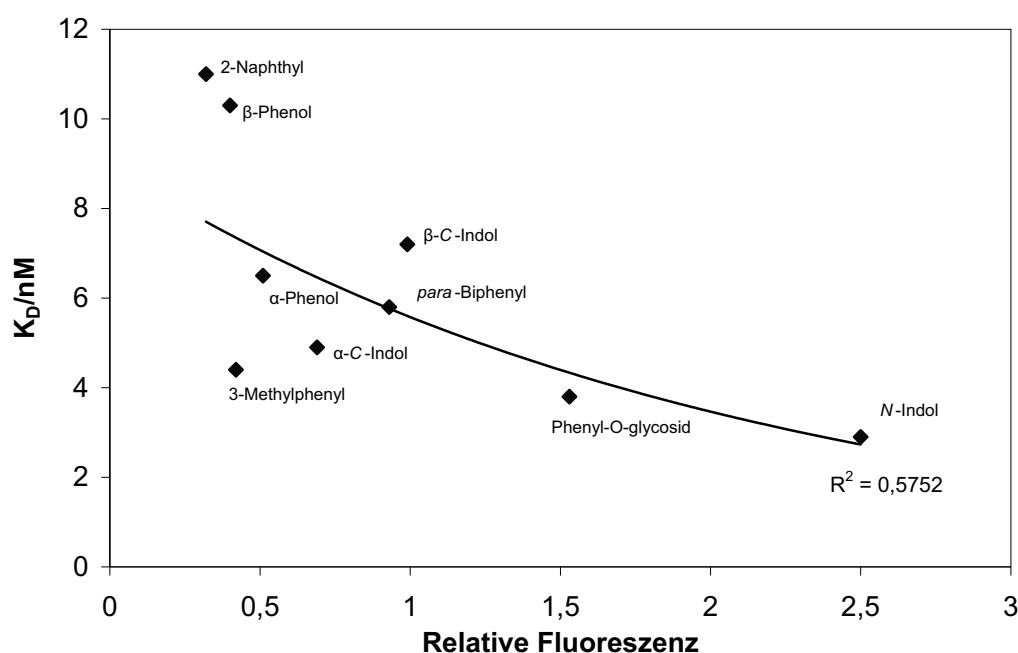


Abbildung 56: Korrelation zwischen der relativen Fluoreszenz der Duplexe **150b-j·151H**, bezogen auf den Einzelstrang **151Ap**, und der Dissoziationskonstante der Duplexe **150b-j·151A**.

Der Indol-*N*-Nukleosid-Duplex **150f·151A** ist im Vergleich mit den *C*-Nukleosid-Duplexen und auch gegenüber den analog an das Desoxyribose-Rückgrat angebundenen und ähnlich großen *C*-Indol-Duplexen **150g·151A** und **150h·151A** der bessere Binder. Ihre schwächere Bindung an *E.coli* Dam als **150f·151A**, könnte die Folge der Ausbildung einer schwachen Wasserstoffbrücke zum Adenin sein, welche die N-H-Bindung im Duplex aufbaut und die während der Mtase-Bindung zerstört werden müsste. Aufgrund der pK_a -Werte von 21 von

Indol und –3 von der protonierten Indoliumspezies sind wahrscheinlich weder die Deprotonierung noch die Protonierung des Aromaten Indol während der DNA-Mtase-Bindung von Bedeutung.^[163] Auch die Polarisierbarkeit, der als Modell geeigneten Aromaten Indol und *N*-Methylindol, die für eine unterschiedlich starke π -Kation-Wechselwirkung von Bedeutung sein könnte, unterscheidet sich nur marginal. Wesentlich erscheint hingegen das Auftreten des anomeren Effektes beim *N*-Indol-Duplex **150f·151A**. Dieser bewirkt eine Schwächung der Kohlenstoff-Stickstoff-Bindung woraus eine Verstärkung der negativen Polarisierung am Stickstoff und ein größerer Elektronenreichtum des π -Systems vom Indol folgt. Dies hat eine bessere Elektronendonorfähigkeit des Indols zur Folge und könnte zu besseren *E.coli*-Dam-Bindern führen. Weitere, bisher nicht durchgeführte Untersuchungen, müssten diese Annahme verifizieren. In Kap. 4.2.4 wurde auf die hohe 2-Aminopurin-Fluoreszenz des *N*-Indol-Duplexes **150f·151A** und ein mögliches, doppelt ausgeklapptes Basenpaar verwiesen, während der Duplex scheinbar um eine Einheit verkürzt wird. Dies erscheint auch hier naheliegend, da die stärkere Vororientierung des Duplexes **150f·151A** eine Ursache für die höhere Bindungsaffinität an *E.coli* Dam sein könnte.

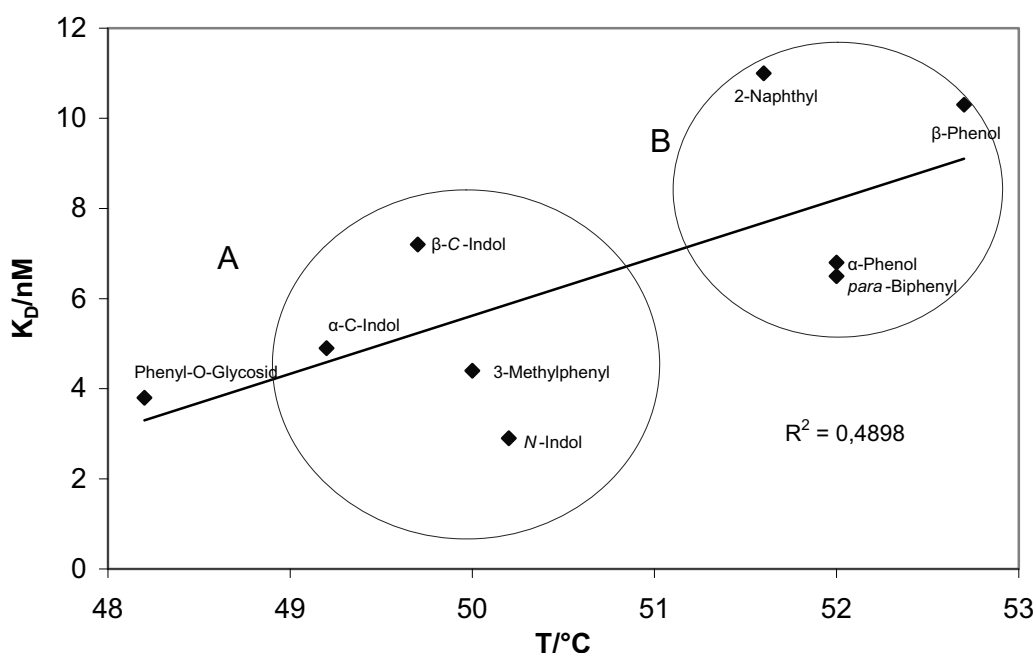


Abbildung 57: Korrelation zwischen der Stabilität der Duplexe **150b-j·151A** und den Dissoziationskonstanten der Duplexe **150b-j·151A** an *E.coli* Dam.

Wie aus den vorliegenden Daten entnommen werden kann, sind Oligonukleotide mit kleineren Surrogaten und mit schlechten Basenstapelungseigenschaften die besseren *E.coli*-Dam-Binder. Im Gegensatz zu den *M.TaqI*-Bindern besteht, im Rahmen der betrachteten

Beispiele, ein Zusammenhang zwischen der Fluoreszenz des 2-Aminopurins **153** und der Bindungsaffinität.

4.3 Binaphthyl – Ein nichtplanares Basensurrogat

Typischerweise sind Basensurrogate planar, wenn es beabsichtigt ist, diese in die helikale Umgebung der DNA einzufügen. Auf diese Weise können starke hydrophobe Effekte und Basenstapelwechselwirkungen profitieren. Bisher ist kein Surrogat beschrieben worden, welches Stapelwechselwirkungen ausgehend von nichtplanaren Einheiten durchführt. Leumann *et al.* haben das nichtplanare *para*-Biphenylsurrogat **Bp** untersucht.^[27,63,131] Jedoch ist dessen Rotationsbarriere ($\Delta G \approx 10$ kJ/mol) zu klein, um eine Planarisierung des Biphenyl-Restes im Basenstapel zu verhindern, wenngleich die Rotation um die Biphenylachse nicht zum Erliegen kommt.^[64,134] Interessanterweise sind multiple Biphenyl-Biphenyl-Paare in der Lage, wie ein Reißverschluss zu stapeln, und so den DNA-Duplex zu stabilisieren.

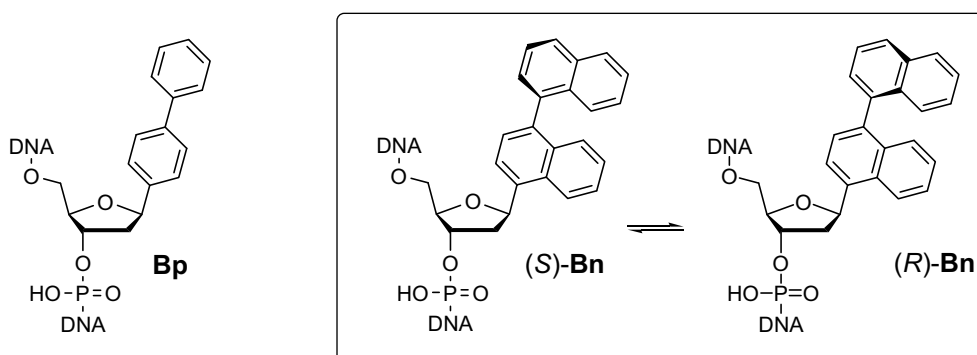


Abbildung 58: Biphenyl und Binaphthyl im Vergleich.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde das 1,1'-Binaphthyl-Ringsystem als neuer Typ eines umgebungssensitiven Fluorophors untersucht (Abb. 58). Es besteht aus zwei Naphthylringen, die im Mittel annähernd orthogonal zueinander stehen.^[132,164] Aufgrund der hohen Rotationsbarriere ist die Rotation um die zentrale Bindung bei 293 K nur sehr langsam ($\Delta G \approx 100$ kJ/mol).^[165] Die optischen Eigenschaften des 1,1'-Binaphthyls sind von der Viskosität des umgebenden Lösungsmittels abhängig. Dieses Verhalten hängt mit dem Unterschied in den bevorzugten interplanaren Winkeln zwischen Grundzustand ($60 - 120^\circ$) und erstem angeregten Zustand (40° und 140°) zusammen.^[132]

Werden mehrere Binaphthyle in einen Duplex eingebaut, so ist zu erwarten, dass die nicht-planaren äußeren Naphthylringe miteinander wechselwirken. Diese Wechselwirkungen können sowohl über Fläche und Fläche als auch über Fläche und Kante erfolgen (Abb. 59).

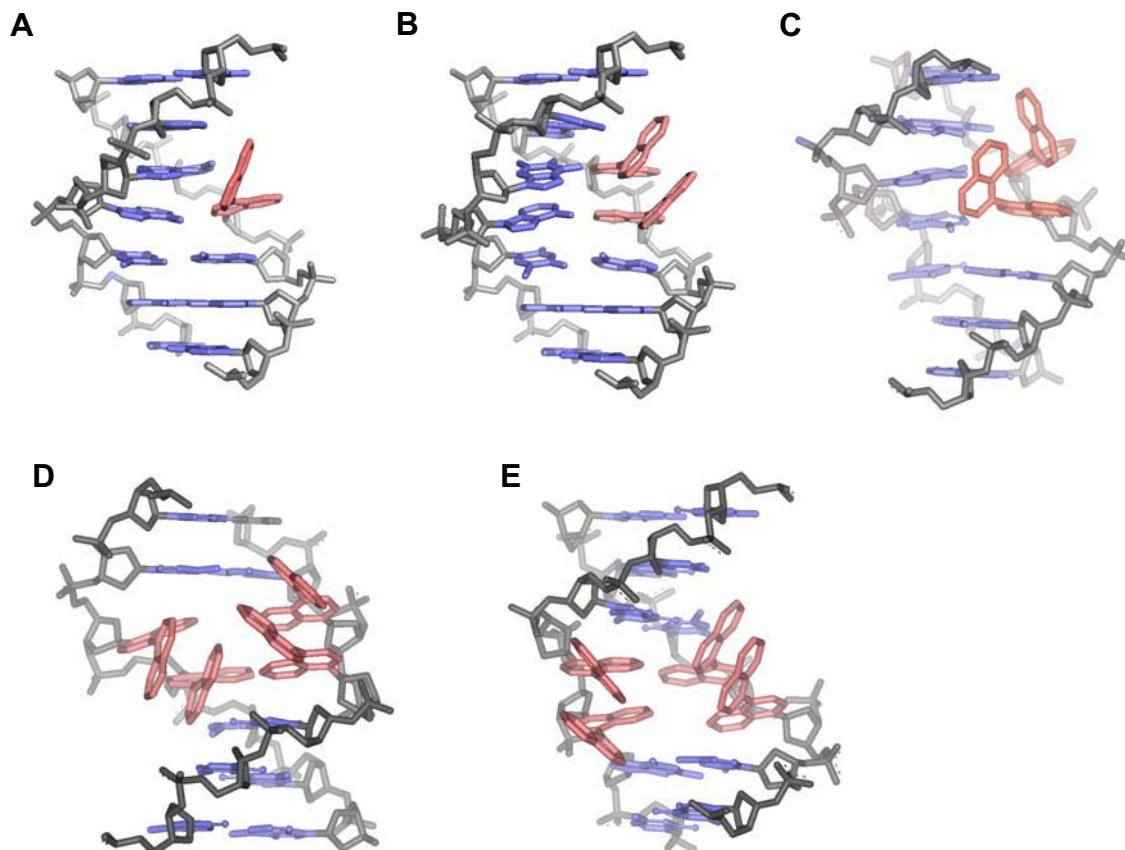


Abbildung 59: Durch „molecular modeling“ mit Hyperchem 7.1 ermittelte mögliche Strukturen von Oligonukleotiden, mit entweder ein (A) oder zwei Binaphthylen mit einer Stapelwechselwirkung der äußeren Naphthylgruppen zwischen Fläche und Fläche (B) oder Fläche und Kante (C) und gegenüberliegende Binaphthylbasen (D, E).

Das Binaphthylnukleosid wurde in die Oligonukleotide **155B – 158B**, **164(B, B₂, B₃)** und **165(B, B₂)** eingebaut. Verschiedene weitere unmodifizierte Oligonukleotide **155T – 158T**, **159 – 163**, **164**, **165**, **164(T, T₂, T₃)**, **165(T, T₂)**, **164(A, A₂, A₃)** und **165(A, A₂)** wurden kommerziell erworben. In der ersten Gruppe von Oligonukleotiden, **155B – 158B** wurde nur ein Binaphthylsurrogat in eine wechselnde Nukleobasenumgebung eingefügt, so dass Binaphthyl entweder von T, A, C oder G flankiert wurde. Eine weitere Gruppe von Oligonukleotiden **164(B, B₂, B₃)** war komplementär zu **165(B, B₂)** und resultierte in Duplexen mit einer ansteigenden Anzahl von Binaphthyleinheiten (Abb. 60).

Das Binaphthylnukleosid **84** (Kap. 4.1) und die weiteren Binaphthylderivate bestehen aus zwei auf der NMR-Zeitskala trennbaren Rotameren, (*S*)-**Bn** und (*R*)-**Bn**. Die Rotationsbarriere führte während der HPLC-Aufreinigung bei einigen Oligonukleotiden zur Bildung von trennbaren diastereomeren Mischungen. Jedoch war die Energiebarriere nicht groß genug, um nach dem Aufreinigungsprozess ein getrenntes Produkt isolieren zu können.

5´-TAGTTCXGAGAAGGTG-3´ 3´-ATCAAGYCTCTTCCAC-5´		X =	TTT	155T	TBnT	155B	Y =	AAA	159
			ATA	156T	ABnA	156B		AAC	160
			CTC	157T	CBnC	157B		TAT	161
			GTG	158T	GBnG	158B		GAG	162
								CAC	163
164	5´-CGGCACGAGCGGC-3´								
165	3´-GCCGTGCTCGCCG-5´								
164B_n	5´-CGGCA(Bn) _n CGAGCGGC-3´	(n = 1-3)							
165B_n	3´-GCCGT(Bn) _n GCTCGCCG-5´	(n = 1-2)							
164T_n	5´-CGGCA(T) _n CGAGCGGC-3´	(n = 1-3)							
165T_n	3´-GCCGT(T) _n GCTCGCCG-5´	(n = 1-2)							
164A_n	5´-CGGCA(A) _n CGAGCGGC-3´	(n = 1-3)							
165A_n	3´-GCCGT(A) _n GCTCGCCG-5´	(n = 1-2)							

Abbildung 60: In dieser Studie verwendete Oligonukleotide.

Um Verunreinigungen als Ursache der Doppelpeaks sicher auszuschließen, wurde von **156B** ein enzymatischer Abbau mit Phosphodiesterase II aus der Kalbsmilz (EC 3.1.16.1) in 0.02 M Diammoniumcitratpuffer durchgeführt und anschließend mit alkalischer Phosphatase aus Kälberdarm (CIAP/EC 3.1.3.1) dephosphoryliert. Die erhaltenen Produkte wurden direkt mittels HPLC, die mit einem Diodenarray-UV- und Fluoreszenzdetektor ausgestattet war, charakterisiert. Der enzymatische Abbau wurde in einem Glasfläschchen für HPLC-Proben durchgeführt, da es in einem Eppendorff-Gefäß zum Anhaften des Nukleosides an die Gefäßwand kam und es nicht mehr nachgewiesen werden konnte. In Abb. 61A ist die HPLC-Spur des aufgereinigten Oligonukleotides **156B** abgebildet. Die Detektion erfolgte über die Absorption bei $\lambda_{\text{em}} = 260$ nm. In Abb. 61B ist die HPLC-Spur des reinen Binaphthylnukleosides **84** abgebildet. Da das Absorptionsspektrum des Binaphthyls bei 260 nm ein Minimum aufweist, erfolgte die Detektion über die Fluoreszenz bei $\lambda_{\text{em}} = 380$ nm. Die HPLC-Spur des verdauten Oligonukleotides, detektiert über die Absorption in Abb. 61C zeigt fünf Peaks. Diese konnten durch den Vergleich mit den bekannten UV-VIS-Spektren eindeutig den vier Nukleobasen und dem Binaphthylnukleosid **84** zugeordnet werden. Einen

zusätzlichen Beweis lieferte die Fluoreszenzspur desselben HPLC-Laufes (Abb. 61D). Die Retentionszeit der intensiven Binaphthyl-Fluoreszenz war identisch mit dem freien Nucleosid in Abb. 61B.

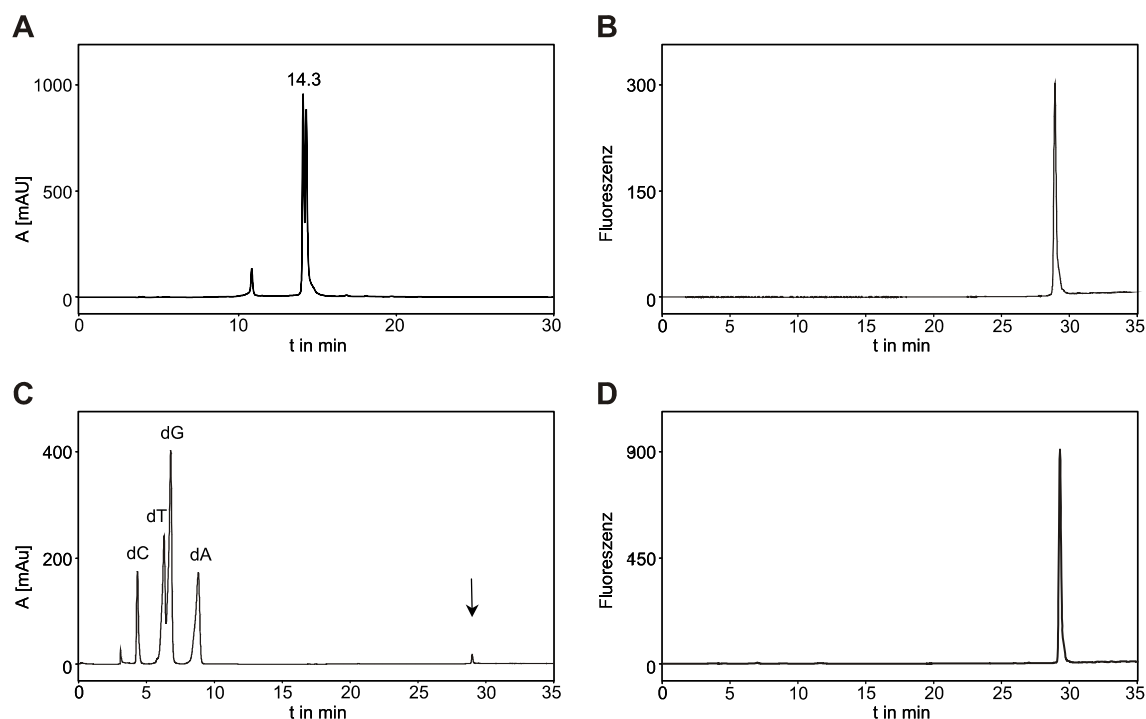


Abbildung 61: A) HPLC-Spur des Oligonukleotides **156B** (3% A 0 - 4 min, 3-60% A 4 - 24 min, Spülschritt: 90 % A 24 - 30 min; A = 0.1 M wässrige TEAA, pH 7; B = MeCN; $\lambda_{\text{abs}} = 260$ nm). Als stationäre Phase wurde eine *Waters Xbridge C18 5 μ m 4.6x250mm* bei einer Flussrate von 1.0 ml/min verwendet. B) HPLC-Spur des Binaphthylnucleosides **84** (3% A 0 - 10 min, 3 - 90% A 10 - 30 min, Spülschritt: 90 % A 30 - 35 min; A = Wasser, pH = 7; B = MeCN; Fluoreszenzemission bei $\lambda_{\text{em}} = 380$ nm, Anregung $\lambda_{\text{abs}} = 305$ nm). C) HPLC-Spur des Phosphodiesteraseverdaus des Oligonukleotides **156B** (Laufmittelgradient wie in B; Absorption: abgebildet $\lambda_{\text{abs}} = 260$ nm). D) HPLC-Spur des Phosphodiesteraseverdaus des Oligonukleotides **156B** (Laufmittelgradient wie in B; Fluoreszenzemission bei $\lambda_{\text{em}} = 380$ nm, Anregung $\lambda_{\text{abs}} = 305$ nm). B - D) Als stationäre Phase wurde eine *CC 125/4 Nucleosil C18Gravity* von *Macherey&Nagel* bei einer Flussrate von 1.0 ml/min verwendet.

4.3.1 Schmelzstudien

Zunächst wurde die thermodynamische Stabilität der Binaphthyl-haltigen Oligonukleotide untersucht. Die Schmelzkurven zeigten in allen Fällen einen einzelnen sigmoidalen Übergang. Daher kann von einem kooperativen Schmelzvorgang ausgegangen werden. Die Schmelztemperaturen der nicht modifizierten Duplexe **155T·159**, **156T·161**, **157T·162** und **158T·163**, deren zentrales T-A-Basenpaar von unterschiedlichen Basenpaaren flankiert wird,

lagen zwischen 54.6°C und 60.4°C (Tab. 9). Wurde das Thymin in den T·A-Basenpaaren der Duplexe **155B·160**, **156B·161**, **157B·162** und **158B·163** durch eine Binaphthylbase ersetzt, so reduzierte sich die Duplexstabilität um $\Delta T_M = 5.8 - 8.8^\circ\text{C}$. Guanin tolerierte den Austausch hierbei am besten, was in der Ausbildung des stabilsten Duplexes **158B·163** mit einer Schmelztemperatur von 54.6°C deutlich wurde. Die starke Reduzierung der Duplexstabilität bestätigt die Ergebnisse aus Kap. 4.2.3, in dem Binaphthyl und andere Naphthyl-substituierte Oligonukleotide bereits betrachtet wurden.

Tabelle 9: Thermodynamische Stabilität Binaphthyl-modifizierter und nicht modifizierter Duplexe.

Modifizierte Duplexe	$T_M/^\circ\text{C}$	Nicht modifizierte Duplexe	$T_M/^\circ\text{C}$	$\Delta T_M/^\circ\text{C}$
155B·159	45.8	155T·159	54.6	-8.8 ^[a]
155B·160	42.5	-	-	-
156B·161	47.0	156T·161	54.8	-7.8 ^[a]
157B·162	51.3	157T·162	59.9	-8.6 ^[a]
158B·163	54.6	158T·163	60.4	-5.8 ^[a]
158B·160	51.0	-	-	-

^a ΔT_M bezogen auf T_M der entsprechenden nicht modifizierten Duplexe. $c = 1 \mu\text{M}$ in 10mM NaH_2PO_4 , 0.1 M NaCl, pH 7.0.

Die Einfügung eines Binaphthyl-Binaphthyl-Paares in **164B·165B** führte zu einem Duplex, der gegenüber dem unmodifizierten Duplex **164·165** um 5.0°C instabiler war. Die Stabilität der Duplexe stieg jedoch an, wenn die Anzahl der Binaphthylreste erhöht wurde. Ein zusätzliches Binaphthyl-Paar bewirkte bereits eine Erhöhung der Schmelztemperatur um 7.8°C von $T_M = 59.6^\circ\text{C}$ für **164B·165B** auf $T_M = 67.4^\circ\text{C}$ für **164B₂·165B₂**. Der Duplex **164B₃·165B₂**, der fünf Binaphthylbasen enthält, erreichte eine Schmelztemperatur von 70.0°C und war somit 5.2°C stabiler als der unmodifizierte Duplex **164·165**. Im Gegensatz dazu führte die wachsende Anzahl von T·T- oder A·A-Basenfehlpaarungen in den Duplexen **164(T, T₂, T₃)·165(T, T₂)** und **164(A, A₂, A₃)·165(A, A₂)** zu einer kontinuierlichen Verringerung der Duplexstabilität (Tab. 10 und Abb. 62). Eine Ausbuchtung durch die Einfügung durch ein einzelnes Nukleosid führte bereits zu einer Verringerung der Schmelztemperatur um 9.3°C (**164T·165**) bzw. 7.0°C (**164A·165**) gegenüber **164·165** wobei Adenin als besserer Interkalator den stabileren Duplex bildete. Ebenso destabilisierend wirkte ein einzelnes fehlgepaartes Basenpaar in **164T·165T** und **164A·165A**. Gegenüber diesen mit A oder T fehl-

gepaarten Duplexen waren die analogen Binaphthyl-Duplexe **164B·165** und **164B·165B** bereits deutlich stabilisiert. Bei den Duplexen **164(T, T₂, T₃)·165(A, A₂)** war eine Aufspaltung in zwei Gruppen zu beobachten. Die erste Gruppe mit einer Schmelztemperatur von rund 66°C besteht aus den vollständig gepaarten Duplexen **164T·165A** und **164T₂·165A₂**. Die zweite Gruppe mit einer T-Ausbuchtung bzw. einer A-Ausbuchtung ist demgegenüber um 7 – 9°C destabilisiert.

Tabelle 10: Thermodynamische Stabilität Binaphthyl-modifizierter und nicht modifizierter Duplexe.

Modifizierte Duplexe ^a		Nicht modifizierte Duplexe ^a					
Bn·Bn	T_M/°C	T·T	T_M/°C	A·A	T_M/°C	T·A	T_M/°C
164·165	64.8						
164B·165	58.7	164T·165	55.5	164A·165	57.8	164T·165	55.5
164B·165B	59.6	164T·165T	56.5	164A·165A	57.9	164T·165A	66.4
164B·165B₂	62.8	164T·165T₂	52.5	164A·165A₂	51.6	164T·165A₂	58.7
164B₂·165B	62.7	164T₂·165T	53.0	164A₂·165A	53.2	164T₂·165A	58.8
164B₂·165B₂	67.4	164T₂·165T₂	52.2	164A₂·165A₂	51.3	164T₂·165A₂	65.9
164B₃·165B₂	70.0	164T₃·165T₂	50.1	164A₃·165A₂	49.0	164T₃·165A₂	58.7

c = 1 µM in 10mM NaH₂PO₄, 0.1 M NaCl, pH 7.0. a) a-d = 0 – 4 Nukleobasen.

Der Duplex **164B·165B** ist Vergleich mit Duplexen mit einer klassischen Basenfehlpaarung wie **164T·165T** und **164A·165A** deutlich stabiler. Das zeigt, dass zusätzliche stabilisierende Wechselwirkungen, wie etwa zwischen den äußeren Naphthylgruppen z. B. in der großen Furche und effizientere Stapelwechselwirkungen der inneren Naphthyle eine bessere Stabilisierung ermöglichen. Die Kompensation des deutlichen Verlustes an Duplexstabilität durch die Einführung eines einzelnen Binaphthylbasenpaares in **164B·165B**, einem auch bei anderen fehlgepaarten Duplexen beobachtetem Verhalten, und die signifikante Stabilisierung von Duplexen wie **164B₂·165B₂** ist bemerkenswert. Der Duplex **164B₂·165B₂** mit zwei Binaphthylpaaren war 1.5°C stabiler als das Oligonukleotid **164A₂·165T₂** mit zwei A·T-Paaren. Weitere T·T-Basenpaare in **164T₂·165T₂** oder A·A-Basenpaare **164A₂·165A₂** führen hingegen zu einer kontinuierlichen Absenkung der Schmelztemperatur, ein sichtbares Zeichen einer Auflösung der Duplexstruktur im Bereich der Störung. Sehr wahrscheinlich werden die zwei Binaphthylbasenpaare die Duplexstruktur über Stapelwechselwirkungen stabilisieren. Ein analoger Anstieg der Duplexstabilität wurde zuerst von Leumann *et al.* bei Biphenyl-Basenpaaren beobachtet.^[27] Die Biphenyle stapeln miteinander und der jeweils

3'-seitig gelegenen Nachbarbase im gegenüberliegenden DNA-Strang in einer Reißverschlussstruktur wodurch das Biphenyl weitgehend planarisiert wird.^[64] Das Binaphthylpaare einer zu Biphenyl analogen Art stapeln ist unwahrscheinlich, da ihre Planarisierung nicht möglich ist. Es scheint daher verständlich, dass ein einzelnes Binaphthylpaar ($\Delta T_M = -5.2^\circ\text{C}$) den Duplex stärker destabilisiert als ein Biphenylpaar ($\Delta T_M = -2.5^\circ\text{C}$ in einer verschiedenen DNA-Sequenz). Eine alternative Reißverschlussstruktur aus Binaphthylbasen, bei der nur die inneren Naphthylringe der gegenüberliegenden Basensurrogate übereinander positioniert würden und sich die äußeren Naphthylgruppen in der großen Furche befänden, erscheint wenig wahrscheinlich. Sie müsste zu einer deutlichen Reduktion des Helixdurchmessers führen.

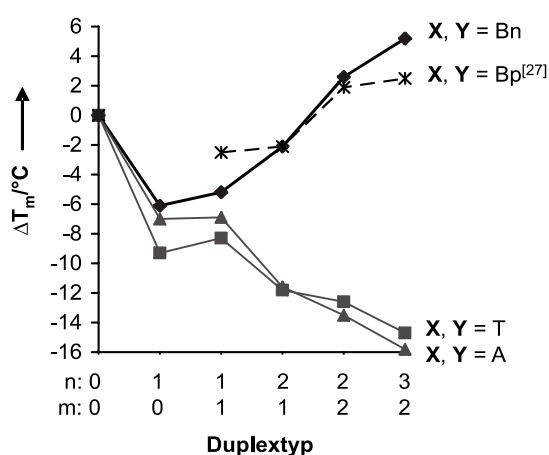


Abbildung 62: Verlauf der thermodynamischen Stabilität der Duplexe **164(B, B₂, B₃)·165(B, B₂)** (X, Y = Bn), **164(T, T₂, T₃)·165(T, T₂)** (X, Y = T) und **164(A, A₂, A₃)·165(A, A₂)** (X, Y = A) in Abhängigkeit von der Anzahl der Basenpaare. Zum Vergleich sind die in der Literatur verfügbaren Werte **Bp-Bp** für das Schmelzverhalten des Biphenyl-modifizierter DNA (mit unterschiedlicher DNA-Sequenz) angegeben.^[27] Die Werte ΔT_M sind auf den unmodifizierten Duplex **164·165** bezogen.

Zusätzliche Binaphthyleinheiten könnten hingegen weitere Wechselwirkungen zwischen den äußeren Naphthylringen in der großen Furche zur Folge haben (Abb. 59B und 59C). Diese Stapelwechselwirkungen würden größere Flächen als das Stapeln der Phenylringe der Biphenyl-Basenpaare nützen. So wäre es vorstellbar, den größeren Anstieg der Schmelztemperatur durch Zufügen eines weiteren Binaphthylpaares ($\Delta T_M = 7.8^\circ\text{C}$) größer ist, als bei einem zusätzlichen Biphenylpaar ($\Delta T_M = 4.4^\circ\text{C}$) mit den Intrastrang-Wechselwirkungen der Naphthylbasen zu erklären.

4.3.2 Fluoreszenzeigenschaften

Zur Untersuchung der Fluoreszenz der Binaphthyl-haltigen Einzelstränge wurden die Oligonukleotide bei einer Wellenlänge von 305 nm angeregt, wodurch es zu einer Emission in einer breiten Fluoreszenzbande mit einem Maximum bei 380 nm kam (Abb. 63). Diese entspricht der Emission des freien Binaphthylfluorophors. Die Anregungsbande des Binaphthyls überlagert mit der Absorptionsbande der Nukleobasen und erschwert die Messungen von Fluoreszenzquantenausbeuten. Daher wurden die Fluoreszenzeigenschaften mit der relativen Fluoreszenz I/I_B charakterisiert, welche die Fluoreszenzemission von Binaphthyl-modifizierten Oligonukleotiden (I) mit der des freien 1,1'-Binaphthyl (I_B) bei der gleichen Konzentration ins Verhältnis setzt. (Tab. 11). Zu berücksichtigen ist, dass dieser Ansatz nicht die Verbreiterung der Absorptionsbande des Binaphthyls in den Oligonukleotiden, die bei der gewählten Wellenlänge von 305 nm zu einer erhöhten Absorption führt, berücksichtigt (Abb. 65A). Die Messungen wurden bei 20°C durchgeführt. Bei dieser Temperatur blieben vollständig gepaarte und einzeln fehlgepaarte Duplexe intakt.

Tabelle 11: Relative Fluoreszenz der Binaphthyl-Oligonukleotide.

Einzelstränge	I/I_B ^[b]	Duplexe	I/I_B ^[b]
1,1'-Binaphthyl	1	-	-
155B	0.055	155B•159	0.099
-	-	155B•160	0.070
156B	0.531	156B•161	0.217
157B	0.091	157B•162	0.050
158B	0.474	158B•163	0.075
-	-	158B•160	0.572
164B	0.078	164B•165	0.160
164B₂	0.664	164B•165B	0.327
164B₃	1.350	164B•165B₂	0.744
165B	0.052	164B₂•165B	1.092
165B₂	0.365	164B₂•165B₂	2.419
-	-	164B₃•165B₂	3.227

c = 1 μ M in 10mM NaH₂PO₄, 0.1 M NaCl, pH 7.0, 20°C, Fluoreszenzemission bei λ_{em} = 380 nm, Anregung λ_{ex} = 305 nm, Mittelwerte aus Doppelbestimmung.

Wie die Untersuchung der Oligonukleotide **155B** – **158B** zeigte, hängt das Löschen der Fluoreszenz stark von den benachbarten Nukleobasen ab. Eine starke Löschung der Fluoreszenz wurde bei benachbarten Pyrimidinen beobachtet (Thymin in **155B**, 18-fach verringerte Fluoreszenz; Cytosin in **157B**, 11-fach verringerte Fluoreszenz). Im Gegensatz dazu war Guanin (vgl. **158B**) ein vergleichsweise ineffizienter Löscher der Binaphthylfluoreszenz. Benachbartes Adenin in **156B** führte zur höchsten Fluoreszenzemission.

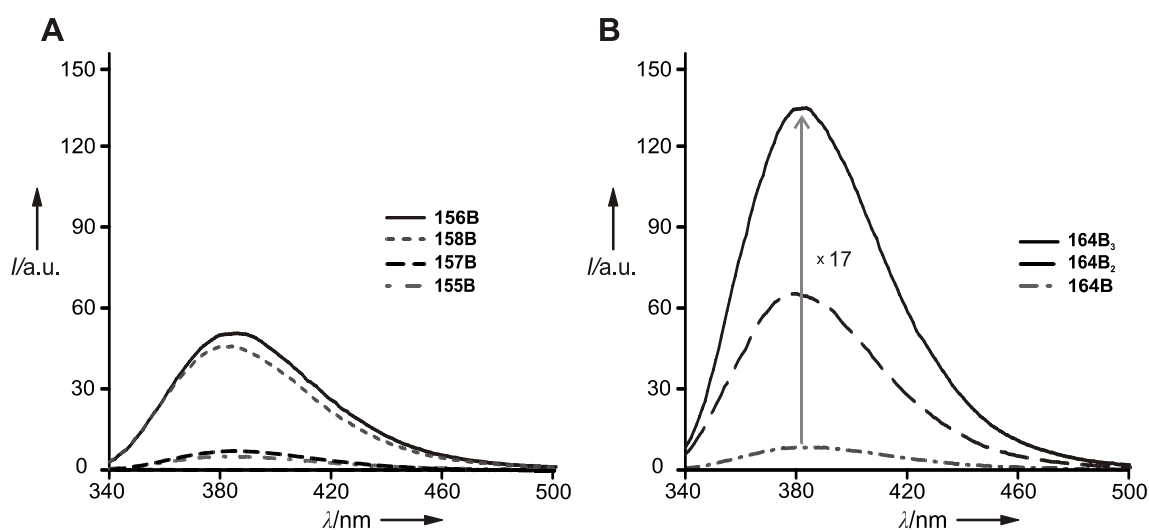


Abbildung 63: Fluoreszenzspektren von Binaphthyl-haltigen DNA-Einzelsträngen.

Durch Einführung eines zweiten oder dritten Fluorophors in **164B₂**, **164B₃** oder **165B₂** erhöhte sich die Fluoreszenz deutlich. So fluoreszierte zum Beispiel das Oligonukleotid **164B₃** ($I/I_B = 1.350$) mit 17-fach höherer Intensität als das Oligonukleotid **164B** ($I/I_B = 0.078$) (Abb. 63B). Dieses Verhalten steht im Gegensatz zu den bisher beobachteten verringerten Fluoreszenzintensitäten bei der Einführung mehrerer planarer Fluorophore wie Pyrene und Perylene.^[69,166] Das setzt voraus, dass die Binaphthylchromophore nur eine geringe Tendenz zur Selbstlöschung der Fluoreszenz zeigen. Vermutlich fungiert die erste Binaphthylbase als „Isolator“,^[70] welcher den zweiten und dritten Binaphthylfluorophor vor dem Löschen durch die Pyrimidine schützt.

In den Doppelstrangoligonukleotiden **155B·159**, **155B·160**, **156B·161**, **157B·162** und **158B·163** wurde die Abhängigkeit der Umgebungssensitivität des einzelnen Binaphthylfluorophors von der Nachbarbase bestätigt. Die meisten der Hybridisierungen führten zu einem Absinken der Fluoreszenz um 45 – 86 %. Das könnte durch stärkere Stapelwechselwirkungen im Duplex erklärt werden. Die Fluoreszenz des einzelsträngigen Oligonukleotides

155B ist besonders stark gelöscht ($I/I_B = 0.055$). In diesem Fall führte die Hybridisierung zu **155B·159** zu einer Verringerung der Löschungsmöglichkeiten und zu einem Anstieg der Fluoreszenz ($I/I_B = 0.099$). Hybridisierungsexperimente mit zwei oder mehr wechselwirkenden Binaphthylen führte zu einer Intensivierung der Binaphthylfluoreszenz. Die Doppelstränge **164(B, B₂, B₃)·165(B, B₂)** fluoreszierten um 50 % - 150 % heller als die erwartete Summe aus der Fluoreszenz der entsprechenden Einzelstränge (Abb. 64). Dies unterstützt die Betrachtungsweise der Wechselwirkungen zwischen Binaphthylbasen als gegenseitiger Schutz vor dem Löschen durch Nukleobasen.

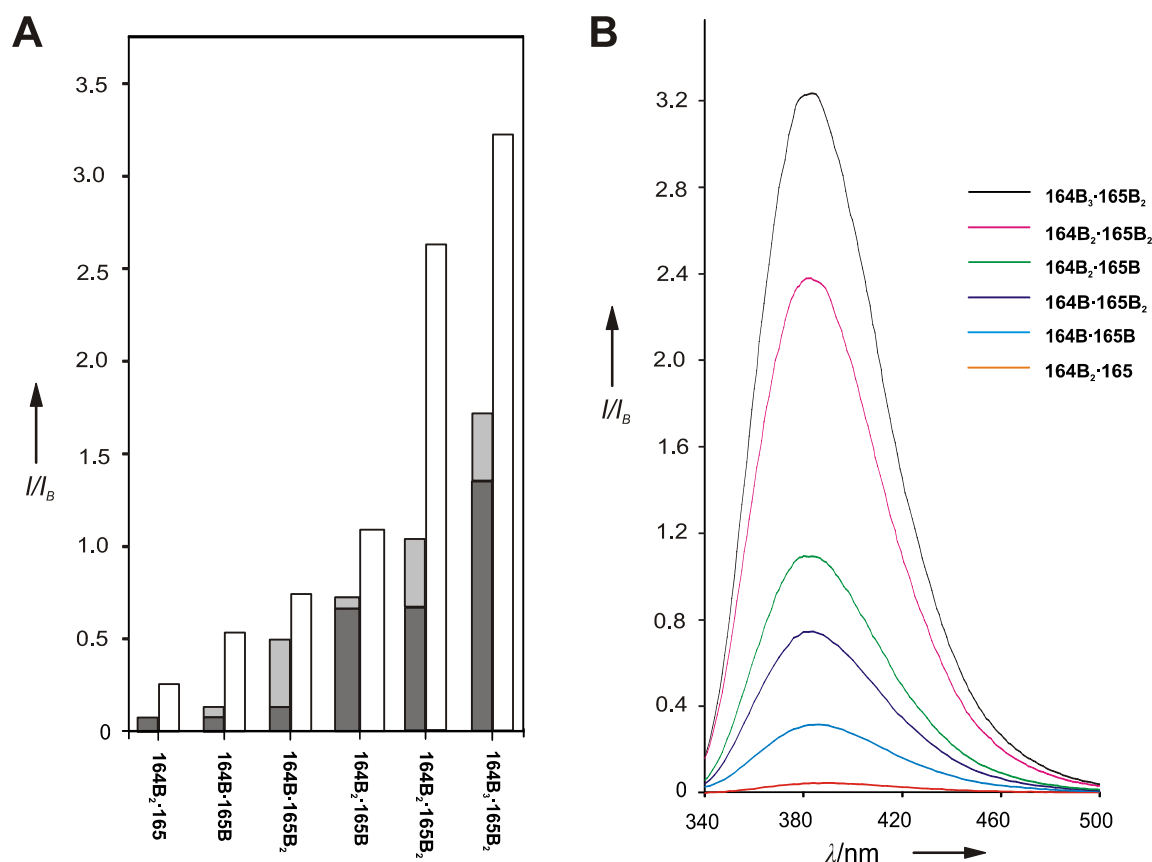


Abbildung 64: A) Vergleich der Fluoreszenz der Duplexe **164(B, B₂, B₃)·165(B, B₂)** mit der Summe der Fluoreszenz der korrespondierenden Einzelstränge. B) Fluoreszenzspektren von Binaphthyl-haltigen DNA-Duplexen.

Anschließend wurde untersucht, ob der Binaphthylfluorophor in der Lage ist, zwischen einem vollständig hybridisierten und einem einzelbasenfehlgepaarten Oligonukleotid zu unterscheiden. Dazu wurde der Sequenzkontext der bekannten G542X-Mutation im CFTR (engl.: cystic fibrose transmembrane conductance regulator) Gen untersucht. Zwei Modellfälle wurden betrachtet. Das Oligonukleotid **158B**, eine mutantenspezifische Sonde für G542X, war ein Beispiel dafür, wie die Fluoreszenz während der Hybridisierung zum

vollständig gepaarten Oligonukleotid **158B·163** absinkt. Der Binaphthylchromophor im einzelbasenfehlgepaarten Duplex **158B·160** fluoreszierte mit einer dem Einzelstrang vergleichbaren Intensität und deutlich intensiver als der vollständig gepaarte Duplex **158B·163** ($I/I_B = 0.075$). Dagegen wurde beim Oligonukleotid **155B** während der Hybridisierung zu **155B·159** ($I/I_B = 0.572$) einen Fluoreszenzanstieg beobachtet (Abb. 63B). Auch in der Sequenz **155B** reagierte der Chromophor auf die Anwesenheit einer benachbarten Fehlpaarung im Duplex **155B·160**. In diesem Fall war die Fluoreszenzemission im vollständig gepaarten Duplex **155B·159** ($I/I_B = 0.099$) höher als im fehlgepaarten Duplex **155B·160** ($I/I_B = 0.070$). Die Struktur des einzelfehlgepaarten Duplexes ermöglicht vermutlich dem Binaphthylfluorophor seine lokale Umgebung gegenüber dem Einzelstrang weitgehend ungestört beizubehalten. Die Paarungs/Fehlpaarungselektivität ist bestimmt als der absolute Wert des Diskriminierungsfaktors D definiert als der Betrag des Verhältnisses zwischen der Fluoreszenzintensität gemessen für das gepaarte und das fehlgepaarte Ziel abzüglich der Hintergrundfluoreszenz. Der Diskriminierungsfaktor beträgt $D = 4$ für **158B** und $D = 2$ für **155B**. Folglich gehören Binaphthyl-haltige Oligonukleotide wie **155B** und **158B** zu den wenigen Einzelfluorophor-Sonden, die sequenzspezifisch und unabhängig von der Hybridisierungselektivität auf Einzelbasenfehlpaarungen reagieren.^[11,167,168,169,170,171,172]

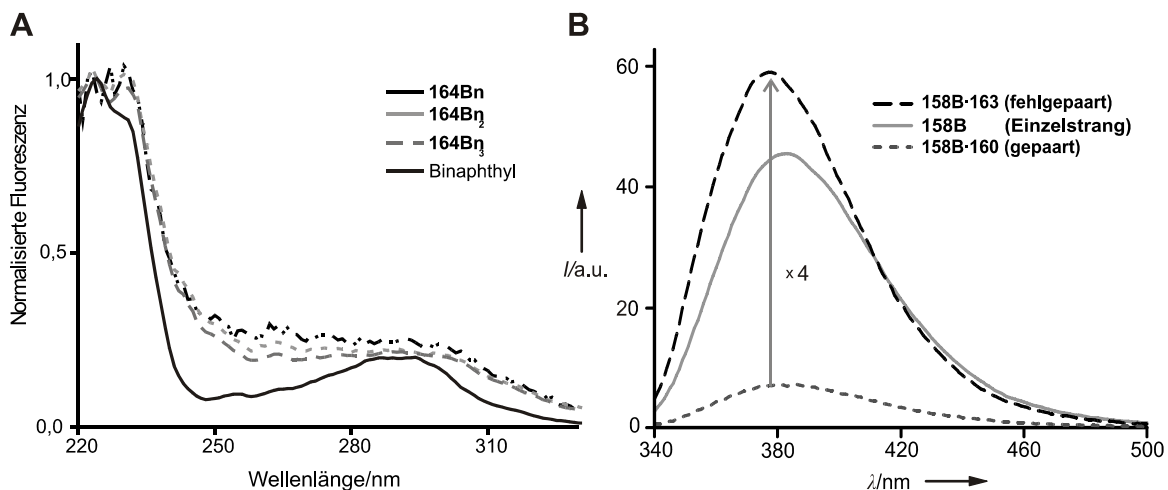


Abbildung 65: Normalisierte Fluoreszenzanregung. Emission bei 380 nm (A). Fluoreszenzspektren des Einzelstranges **158B** und der vollständig und einzelfehlgepaarten Duplexe **158B·163** und **158B·160** (B).

4.3.3 Diskussion des Teilabschnittes

Das Ziel dieser Untersuchung war die Charakterisierung eines nichtplanaren, flexiblen Fluorophors wie z. B. Binaphthyl als Basensurrogat in DNA. Die Stabilisierung des DNA-Duplexes bei der Einführung multipler Binaphthyle erscheint auf den ersten Blick überraschend. Jedoch ist die Grundzustandspotentialkurve von Binaphthyl zwischen 60° und 120° dihedralem Winkel flach.^[132] Daher kann das Binaphthylsystem die zwei flexibel verbundenen Aromateneinheiten optimal für Stapelwechselwirkungen mit innerhelikalen und außerhelikalen Partnern positionieren. Dies führt jedoch nicht, wie bei Pyren und anderen planaren Fluorophoren beobachtet, zu einer starken Selbstlöschung.^[166]

Eine effiziente Löschung der Fluoreszenz wurde beobachtet, wenn das Binaphthyl benachbart zu Pyrimidinen positioniert wurde. Der Grad an Löschung war in Einzelsträngen, vollständig gepaarten und einzelbasenfehlgepaarten Doppelsträngen unterschiedlich. Binaphthyl reagiert auf Änderungen der Basenstapelwechselwirkungen und erlaubt die Unterscheidung von gepaarten und fehlgepaarten Duplexen unter Bedingungen, bei denen beide Duplexe gebildet werden. Durch die Einführung multipler Binaphthyle erhöhte sich die Fluoreszenz deutlich. Vermutlich fungiert die erste Binaphthylbase als „Isolator“,^[70] wodurch die zweiten und dritten Binaphthylfluorophore vor dem Löschen durch die Pyrimidine geschützt werden. Das setzt eine geringe Tendenz des Binaphthyls zur Selbstlöschung voraus, wie sie als charakteristisch für Binaphthyl-basierende Fluorophore beschrieben wurde. Als Erklärung hierfür wurde herangezogen, dass ein nicht-coplanares System nicht in der Lage sei, zwischen den einzelnen Molekülen elektronische Wechselwirkungen einzugehen, welche zur Selbstlöschung führen würden.^[173] Als Triebkraft für eine Anordnung der Binaphthyle in den Oligonukleotiden sollte demgemäß die Vermeidung hydrophober Wechselwirkungen mit der wässrigen Umgebung zu erwartensein.

Verschiedene strukturelle Muster, wie die Binaphthyle in der Helix angeordnet werden können, sind denkbar. Diese könnten die Beobachtungen der mit der Anzahl ab Binaphthyleinheiten steigenden thermodynamischen Stabilität der Duplexe erklären. Eine Energieminimierung von binaphthylhaltigen Oligonukleotiden mittels „molecular modeling“ ergab acht mögliche Strukturen des Binaphthylnukleosides (Abb. 66). Diese resultierten aus der Rotation um die Naphthyl-Naphthyl-Bindung und der in syn- oder in anti-Position zum Zucker stehenden Nukleobase. Folglich sind, wird eine helikale Struktur der DNA

angenommen, bei mehreren Binaphthylen eine Vielzahl von Strukturen denkbar, je nachdem wie die Binaphthyle zueinander stehen und ob sowohl Intra- als auch Interstrangstapelwechselwirkungen eingegangen werden können.

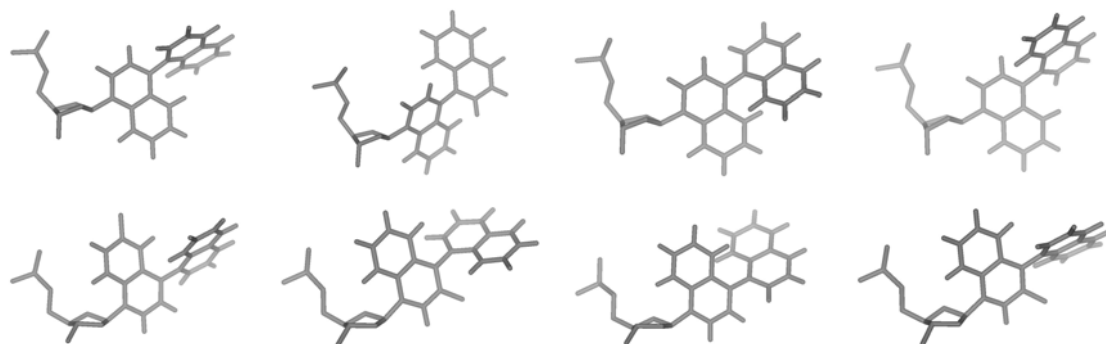


Abbildung 66: Ausschnitt aus anhand „molecular modeling“ ermittelten möglichen, energieminimierten Strukturen von Binaphthyl-DNA. Es gibt acht verschiedene energieminimierbare Binaphthyl-Grundstrukturen. (Obere Reihe anti zu Desoxy-D-ribose, 1. u. 2. Abb.: (S)-Bn, 3. u. 4. Abb.: (R)-Bn; untere Reihe syn zu Desoxy-D-ribose, 1. u. 2. Abb.: (S)-Bn, 3. u. 4. Abb.: (R)-Bn)

Die Binaphthyleinheiten ermöglichen Intrastrangwechselwirkungen zwischen den äußeren Naphthylringen in der großen Furche (Abb. 59B und 59C). Diese Wechselwirkungen nutzen größere Flächen als das Stapeln der Phenylringe der Biphenyl-Basenpaare. Hydrophobe Wechselwirkungen zwischen mehreren Binaphthylen, die bereits in den Einzelsträngen zu erwarten sind, auch wenn wahrscheinlich keine geordnete Struktur gebildet wird, könnten die Flexibilität deutlich reduzieren. So könnte den Entropieverlust während der Doppelstrangbildung minimiert werden.

Die Haupttriebkraft des nichtklassischen hydrophoben Effektes ist die Vermeidung geschwächter Wasserstoffbrücken an hydrophoben Flächen, die in den Binaphthyl-Duplexen erfolgt, während die großen hydrophoben Flächen des Einzelstranges, insbesondere der äußeren Naphthylgruppen weitgehend von Stapelwechselwirkungen ausgeschlossen sind.^[135] Es ist daher zu vermuten, dass der Anstieg der Schmelztemperatur mit steigender Anzahl von Binaphthylen weitgehend auf dem hydrophoben Effekt und insbesondere auf dem nichtklassischen (mit Enthalpieverlust einhergehenden) hydrophoben Effekt beruht.^[131]

Im Gegensatz zu den Interstrangstapelwechselwirkungen zwischen Biphenylbasenpaaren, könnten die Wechselwirkungen der Binaphthylbasen ohne ein Strecken der DNA stattfinden, wobei das Muster aus gegenüber angeordneten Basenpaaren erhalten bliebe. Vorstellbar ist bei zwei oder mehr Binaphthylbasenpaaren ein Modell bei dem sich mehrere äußere

Naphthyle der verschiedenen Binaphthyle sich so in der großen Furche anordnen, dass eine dritter Basenstapel entsteht. Es wäre auch, in Abhängigkeit von einer zunehmenden Anzahl von Binaphthylsurrogate ein teilweises Auflösen der geordneten Stapelung denkbar. Die Folge wäre dann ein hydrophobes, ungeordnetes „Knäuel“ aus Binaphthylen. Einen Hinweis für eine Basenpaarbildung liefert jedoch die Entwicklung der Fluoreszenz innerhalb der Reihe der Duplexe **164(B, B₂, B₃)·165(B, B₂)** gegenüber den Einzelsträngen. Die symmetrisch modifizierten Duplexe **164B·165B** und **164B₂·165B₂** weisen die höchsten Fluoreszenzanstiege auf.

Ein überzähliges Binaphthyl wie in den Duplexe **164B₂·165B** und **164B₃·165B₂** scheint aber in die Basenstapelung involviert zu werden. Stärker noch als bei den Biphenylbasenpaaren und im Gegensatz zu anderen Duplexen wie dem ebenfalls Binaphthyl-haltige Duplex **164B·165**, sowie **164T₂·165T** und **164A₂·165A**, zeigt sich bei mehreren Binaphthylen auch bei den Duplexen mit den Ausbuchtungen eine Tendenz zum Anstieg der Schmelztemperaturen. Für Untersuchung ob und wie davon die Struktur beeinflusst wird und wie die Oligonukleotide durch eine noch größere Anzahl von Binaphthyl beeinflusst werden, wären in weiteren Studien wäre die Messung von CD-Spektren sinnvoll, um Aussagen zur Chiralität des Binaphthylsystemes treffen zu können. Dies erfordert jedoch Modifikationen des Binaphthyl-Fluorophors, um eine Überlagerung der Absorptionsbanden des Binaphthyls und der Nukleobasen zu vermeiden. Die Verwendung von substituierten Binaphthylen mit einer stabilen axialen Chiralität könnte weitere wichtige Informationen liefern.

5 Zusammenfassung und Ausblick

5.1 Zusammenfassung

Die Darstellung von Analoga der natürlichen Nukleobasen zu medizinischen Zwecken, und deren Einbau in Oligonukleotide, sind wichtige Arbeitsfelder der organischen Chemie.[1] Modifizierte Oligonukleotide finden Verwendung als Fluoreszenzsonden,[4] in der PCR und diagnostischen Anwendungen,[10,11] in mechanistischen Studien zur Aufklärung von DNA-DNA- und DNA-Protein-Wechselwirkungen[2,3] und weiteren auf dem DNA-Rückgrat basierenden artifiziellen Funktionen.[6,7,8] Die hydrolysestabile C-C-Bindung von Nukleosiden, deren Nukleobase über ein aromatisches oder methylen-verbrücktes Kohlenstoffatom an Ribose oder 2-Desoxyribose gebunden ist, ermöglicht die Synthese von neuartigen Strukturen und Eigenschaften, die bei N-Nukleosiden nicht stabil oder nicht gegeben wären. Dargestellt werden C-Nukleoside vorwiegend durch die organometall-vermittelte Kupplung von Glycosylbausteinen wie anomeren Halogeniden und Lactonen mit der vorgeformten Nukleobase. Limitationen der C-Nukleosidsynthese sind oftmals geringe Ausbeuten, eine ungünstige Diastereomereenselektivität, die Verwendung von teuren Glycosyldonoren und toxischen Reagenzien sowie die zeitaufwendige Trennung der Diastereomere.[17] Seitz und Weinhold *et al.* haben die gesteigerte Bindung von mit C-Nukleosiden als Basensurrogaten modifizierten Oligonukleotiden an die DNA-Methyltransferase (DNA-Mtase) *M.TaqI* beschrieben. Die Umsetzung von Normant-Cupraten mit dem Chlorozucker **34** zu carbozyklischen C-Nukleosiden wurde als Alternative zu den zuvor benutzten Cadmium-Organen gezeigt.[5,39]

Das Ziel dieser Arbeit war die Darstellung von C-Nukleosiden über die Cuprat-vermittelte Glycosylierung und die Friedel-Crafts-Alkylierung und die Weiterentwicklung dieser beiden leistungsfähigen Methoden. Mit den C-Nukleosiden sollten modifizierte Oligonukleotide, die als potentiell verbesserte Binder an *M.TaqI* und *E.coli* Dam dienen, dargestellt werden. Oligonukleotide, die ein oder mehrere 1,1'-Binaphthyl-Chromophore als einen neuen Typus eines torsionsflexiblen Farbstoffes enthalten, wurden untersucht.

Das 1,1'-Binaphthyl besteht aus zwei Naphthylringen, die im Mittel annähernd orthogonal zueinander stehen.[132,164] Die Rotation um die zentrale Bindung ist bei 293 K nur sehr langsam.[165] Es besitzt eine hohe Quantenausbeute und eine geringe Neigung zur Selbst-

löschung (Abb. 67). Bisher ist kein DNA-Basensurrogat beschrieben worden, welches Stapelwechselwirkungen ausgehend von nichtplanaren Einheiten durchführt.

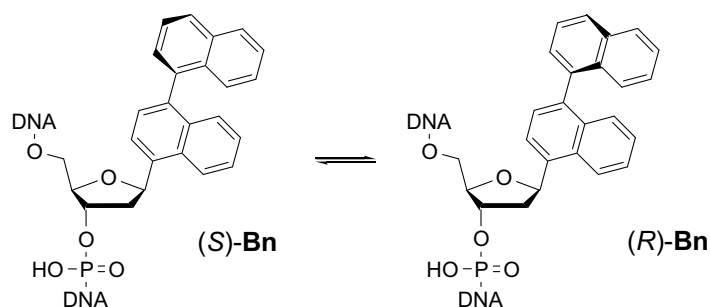


Abbildung 67: (R)-Binaphthyl und (S)-Binaphthyl.

Bakterien nutzen für den Erhalt der Integrität ihrer genomischen Information die Methylierung von Cytosin an der *N*4- oder *C*5- bzw. von Adenin an der *N*6-Position. Dies erlaubt die Unterscheidung zwischen zelleigener und fremder DNA und der Identifizierung der neusynthetisierten DNA bei der DNA-Replikation.^[9] Die postreplikative Methylierung der hemimethylierten DNA wird von DNA-Mtasen durchgeführt, welche spezifische Sequenzen erkennen. Die Inhibierung von *N*6-Adenosin-spezifischen DNA-Mtasen könnte eine aussichtsreiche Strategie für die gezielte Entwicklung von selektiven Antibiotika darstellen, da Säugetiere im Unterschied zu Bakterien keine *N*6-Adenosin-spezifischen DNA-Mtasen besitzen. Die Ansätze für eine strukturgeleitete Entwicklung von Inhibitoren zielen auf die Bindungsstelle der Zielbase. Im Rahmen eines Projektes zur Ergründung des Mechanismus von DNA-Mtasen, sollten mit *C*-Nucleosiden modifizierten Oligonukleotiden als potentiell verbesserte Binder an *M.TaqI* und *E.coli* Dam dargestellt und nach ihrer Charakterisierung über Schmelzwerte und Fluoreszenzeigenschaften zur Bestimmung der Dissoziationskonstanten an die Arbeitsgruppe von Prof. Elmar Weinhold weitergereicht werden (Abb. 68).

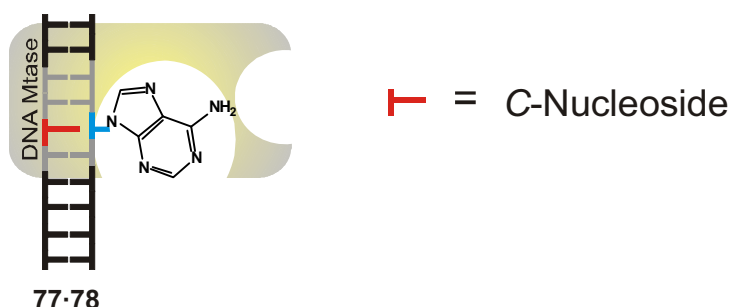


Abbildung 68: Konzept zur Bindung an DNA-Mtasen. Die Basensurrogate werden gegenüber der Zielbase positioniert, um die scheinbare Leerstelle zu stabilisieren, die durch die Bindung der DNA-Mtase entsteht.

Die Synthesen von insgesamt 13 C-Nukleosiden wurden über die Umsetzung von Grignard-basierenden Normant-Cupraten mit Hoffer's Chlorozucker **34** durchgeführt (Abb. 69). Die C-Glycosylierung von Normant-Cupraten mit Chlorozucker **34** verbindet eine breite Anwendbarkeit mit Schnelligkeit und hohen C-C-Kupplungsausbeuten (75 % - 95 %). Selbst sterisch gehinderte Aromaten wie 2-Brombiphenyl konnten problemlos in 83 % Ausbeute umgesetzt werden. Es wurde zudem gezeigt, dass auch ein stabiles anomeres Acetat einen geeigneten Glycosyldonor darstellt. Die Cuprat-vermittelten Reaktionen verliefen wie die analogen Cadmiumorganyl-vermittelten Reaktionen unter neutralen Reaktionsbedingungen, jedoch mit besseren Ausbeuten und unter Vermeidung der toxischen Reagenzien. Die meist bevorzugt gebildeten α -Anomere **134 α** ($\alpha:\beta$ = 4:1 – 1:1.3) wurden durch eine sauer katalysierte Epimerisierung in das mit den gewünschten β -Anomeren **134 β** angereicherte thermodynamische Gemisch überführt.^[45]

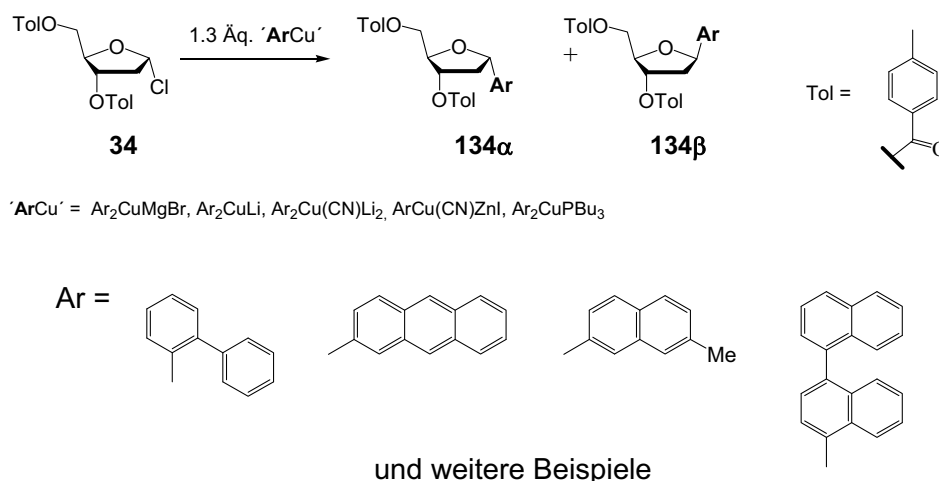


Abbildung 69: Synthese von Aryl-C-Nukleosiden über Organocuprate.

Die C-C-Kupplungen mit lithium-basierende Cuprate vereinfachen das Einführen verschiedener funktioneller Gruppen.^[47] Ein Lithium-basierendes Cuprat wurde erfolgreich für die Synthese des 2-Anthracenylnukleosides **134qa β** eingesetzt, bei dem die Erzeugung des Grignard-Reagenzes nicht möglich ist. Zudem konnten auf diesem Weg mit dem α -Anomer angereicherte Aryloxy-2'-desoxynukleoside **142** in hohen Ausbeuten dargestellt werden. Wie der Vergleich mit konkurrierenden Verknüpfungsmethoden zeigt, gestattet die Cuprat-vermittelte Glycosylierung eine leistungsfähige, nicht toxische und günstige Synthese von carbozyklischen C-Nukleosiden.

Eine weitere Methode zur Synthese von C-Nukleosiden aus elektronenreichen Aromaten und geeigneten Glycosyldonoren ist die Friedel-Crafts-Alkylierung. Verschiedene C-Nukleoside

wurden über eine Friedel-Crafts-Alkylierung ausgehend von 2-Desoxy-D-ribose und den unsubstituierten Aromaten in nur vier Stufen synthetisiert. Die richtige Wahl der Lewisäure, des Glycosyldonors und eine sorgfältige Anpassung der Reaktionsbedingungen ermöglichten den Erhalt lohnender Ausbeuten. Die Kupplung erfolgte an das Desoxyriboserrückgrat in Ausbeute zwischen 20 – 56 % wobei die Bildung der β -Anomere **134 β** gegenüber den α -Anomeren **134 α** entsprechend dem thermodynamischen Verhältnis $\beta:\alpha \approx 5:1 - 3:1$ bevorzugt ist (Abb. 70). Die Darstellung der für die automatisierte DNA-Synthese benötigten 5'-DMT-geschützte 3'-Phosphoramidite erfolgte in weiteren drei Stufen aus den Toluolestern **134 β** .

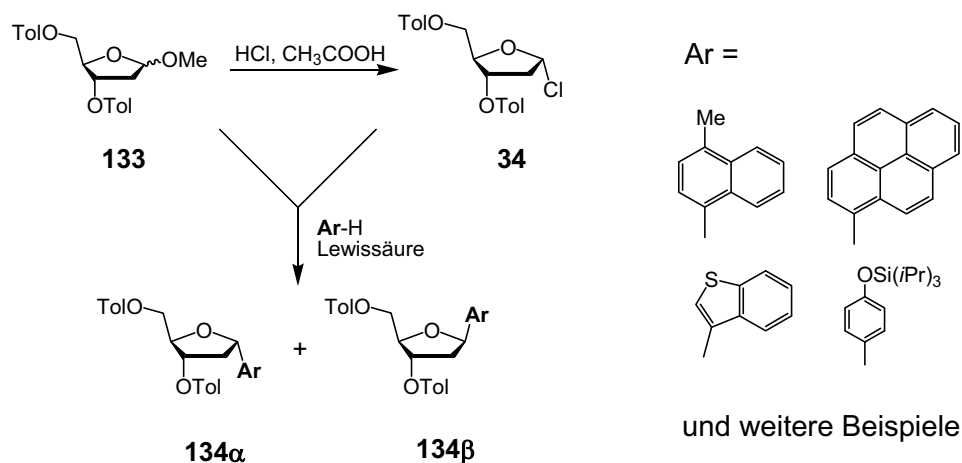


Abbildung 70: Syntheschema zur Synthese von Hoffer's Chlorozuckers **34**, Friedel-Crafts-Alkylierung. Als Ausgangsmaterial dienen entweder **133** oder **34**, die in Gegenwart einer Lewis-Säure mit Aromaten umgesetzt werden.

Als Oligonukleotide, die für Studien mit den DNA-Mtasen *M.TaqI* und *E.coli* Dam vorgesehen waren, wurden zwei in Abb. 71 gezeigte DNA-Sequenzen **148-149** und **150-151** gewählt. Ein Thymin (T) innerhalb der Erkennungssequenz von **148** und **150** wurde durch die Basensurrogate ersetzt. An den komplementären Oligonukleotiden **149** und **151** wurden an der Zielposition für die Methylierung Adenin (**A**), der umgebungs-sensitive Fluorophor 2-Aminopurin (**Ap**) oder ein dSpacer-Baustein (**H**) eingefügt. Die gewählten C-Nukleoside mit einfachen aromatischen Strukturen sollten gute Stapelungseigenschaften besitzen, keine Wasserstoffbrücken ausbilden und die scheinbare Leerstelle überbrücken, die bei der Bindung an *M.TaqI* durch das Herausdrehen der Zielbase aus dem Duplex entsteht. Eine Gruppe mit elektronenreichen, heteroaromatischen C-Nukleosiden wurde auf der Grundlage der, aus der Kristallstruktur von *E.coli* Dam resultierenden These, dass die Partnerbase im Übergangszustand ebenfalls aus dem Duplex herausgedreht und über eine π -Kation-Wechselwirkung stabilisiert wird,^[94] ausgewählt.

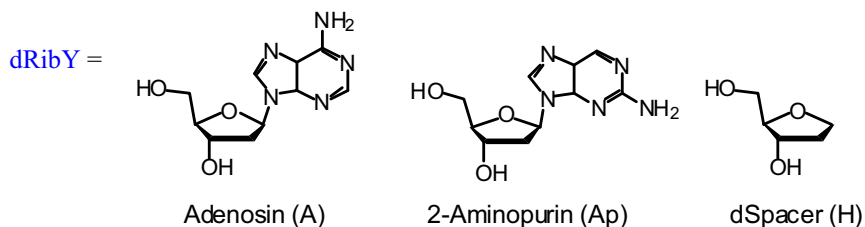
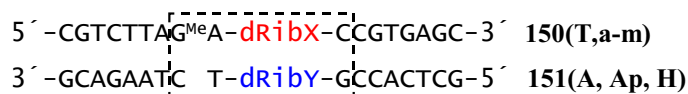
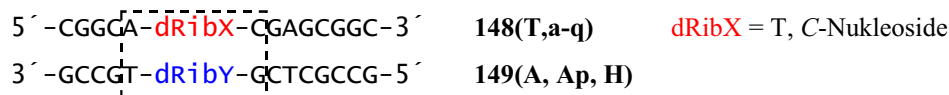


Abbildung 71: Oligonukleotide für die Mtase Studien. Die Erkennungssequenz ist innerhalb der Box, das Zielnukleotid für die Methylierung ist in blau gezeichnet.

Die über die Schmelztemperatur bestimmte, thermodynamische Stabilität der modifizierten Oligonukleotide, steht in engem Zusammenhang mit Größe des π -Systems der Surrogate. Die Basenpaarung mit Adenin oder 2-Aminopurin in den Duplexen **148a-q·149(A, Ap)** und **150a-j·151(A, Ap)** war gegenüber den Duplexen **148T·149(A, Ap)** und **150T·151(A, Ap)** generell mit einem Verlust an thermodynamischer Stabilität verbunden. Im Bereich des Zielbasenpaares kam es zu einer Aufweichung der Duplexe. Im Vergleich mit den abasisch modifizierten Duplexen **148T·149H** und **150T·151H** wurde durch die Einführung von Basensurrogaten anstelle von Thymin in den Duplexen **148a-q·149H** und **150a-j·151H** bis zu 14,1°C höhere Schmelztemperaturen beobachtet. Größere Basensurrogate waren tendenziell für die Stabilisierung der Leerstelle besser geeignet.

Die Intensität der Fluoreszenz von 2-Aminopurin erlaubt es, Aussagen über das Entstapeln innerhalb eines Doppelstranges zu treffen, einem während der DNA-Mtase-Bindung wichtigen Teilprozess. Bei der Untersuchung der Emission von 2-Aminopurin in den Duplexen **148·149Ap** und **150·151Ap** mit nicht fluoreszenten Aromaten wurden im Vergleich mit einem **148T·149Ap** und **150T·151Ap** Fluoreszenzanstiege mit einem Faktor 1.7 – 16.7 gemessen. Dabei wurde eine gute Korrelation zwischen der Fluoreszenz des 2-Aminopurins und der Bindungsaffinität der Duplexe **150a-j·151A** an *E.coli* Dam beobachtet.

Im Anschluss wurden die Oligonukleotide an die Arbeitsgruppe von Prof. Elmar Weinhold weitergereicht und dort Bindungsstudien an *M.TaqI* und *E.coli* Dam durchgeführt. Die Oligonukleotide **148a-q·149A** erreichten an *M.TaqI* im Vergleich zum unmodifizierten Oligonukleotid **148T·149A** relative Bindungsaffinitäten zwischen 0.5 – 749. Die Dissoziations-

konstante K_D des 2-Naphthyl-Duplexes **148q·149A** war 4 pM. Durch einen Vergleich der durch die Arbeitsgruppe von Prof. Scheidig angefertigten Kristallstruktur **148q·149A** im Komplex mit *M.TaqI*, mit der Kristallstruktur von *M.TaqI* mit unmodifizierter DNA^[91] wurde bei letzterer in 3'-Richtung zum herausgedrehten Adenosin ein energetisch ungünstiger Bruch in der Basenstapelung festgestellt. Dieser kann durch den Einsatz von Surrogaten vermieden werden. Bei der Bindung an *E.coli* Dam wiesen mit Basensurrogaten modifizierte Duplexe **150a-j·151A** gegenüber einem unmodifizierten Duplex höhere Affinitäten auf. Es besteht ein Zusammenhang zwischen kleineren Aromaten mit schlechten Stapelungseigenschaften und stabileren *E.coli*-Dam-Bindern. Im Gegensatz zu den *M.TaqI*-Bindern korreliert im Rahmen der betrachteten Beispiele die Fluoreszenz des 2-Aminopurins **153** mit der Bindungsaffinität. Daher scheint eine Aufweichung des Duplex im Bereich der Modifikation die Ursache der stabileren Bindung an *E.coli* Dam zu sein. Der *N*-Indol-Duplex **150f·151A** ist mit einem $K_D = 2.9$ nM und einer relativen Affinität von 13.7 gegenüber dem natürlichen Substrat der beste Binder.

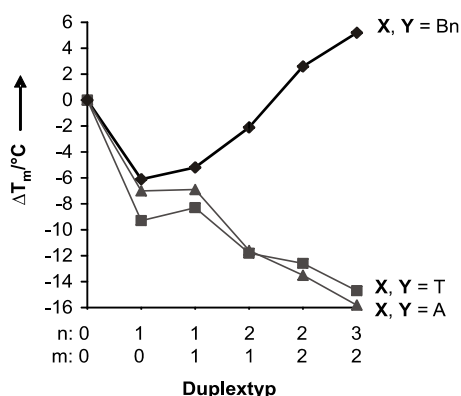
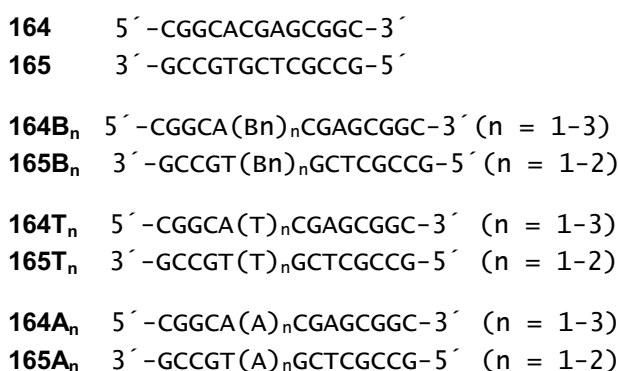


Abbildung 72: Verlauf der thermodynamischen Stabilität der Duplexe **164(B, B₂, B₃)·165(B, B₂)** (X, Y = Bn), **164(T, T₂, T₃)·165(T, T₂)** (X, Y = T) und **164(A, A₂, A₃)·165(A, A₂)** (X, Y = A) in Abhängigkeit von der Anzahl der Basenpaare.

Für die Studien mit dem Binaphthylnukleosid wurden die Oligonukleotide **155B – 158B** mit einer Surrogateinheit und variablen Nachbarbasen verwendet. Weitere Oligonukleotide **164(B, B₂, B₃) 165(B, B₂)** waren zueinander komplementär und besaßen eine ansteigende Zahl von Binaphthyleinheiten. Zunächst wurde deren thermodynamische Stabilität über die Schmelztemperatur untersucht. Durch die Einführung einer einzelnen Binaphthylbase in dem Oligonukleotid **164B·165** erfolgte ein deutlicher Verlust an Stabilität gegenüber dem unmodifizierten Duplex **164·165**. Die Einführung weiterer Binaphthylbasen führte aber auffälligerweise und im Gegensatz zu Duplexen mit AA-Fehlpaarungen **164A-A₃·165A-A₂**

oder mit A·T-Paaren **164T-T₃·165A-A₂** zu einem kontinuierlichen Anstieg der Duplexstabilität. Der längste, asymmetrisch modifizierte Duplex **164B₃·165B₂**, der fünf Binaphthylbasen enthält, war 5.2°C stabiler als **164·165**. Der Duplex **164B₂·165B₂** mit zwei Binaphthylpaaren war 1.5°C stabiler als das vergleichbare Oligonukleotid **164T₂·165A₂** mit zwei A·T-Paaren. Die zwei Binaphthylbasenpaare stabilisieren die Duplexstruktur wahrscheinlich mit Stapelwechselwirkungen nicht nur im Inneren sondern auch in der Peripherie des Duplexes.

Durch die Fluoreszenz des Binaphthyls war die Unterscheidung zwischen einem vollständig hybridisierten und einem basenfehlgepaarten Oligonukleotid möglich. Im Falle der Oligonukleotide **158B** und **163** führte die Hybridisierung zu einem vollständig gepaarten Oligonukleotid und zu einer teilweisen Fluoreszenzlöschung. Der einzelbasen-fehlgepaarte Duplex **158B·160** fluoreszierte hingegen mit einer dem Einzelstrang vergleichbaren Intensität (Abb. 72A. Binaphthylhaltige Oligonukleotide gehören daher zu den wenigen Einzelfluorophor-Sonden, die sequenzspezifisch und unabhängig von der Hybridisierungsselektivität auf Einzelbasenpolymorphismen reagieren.^[11,167,168,169,170,171,172]

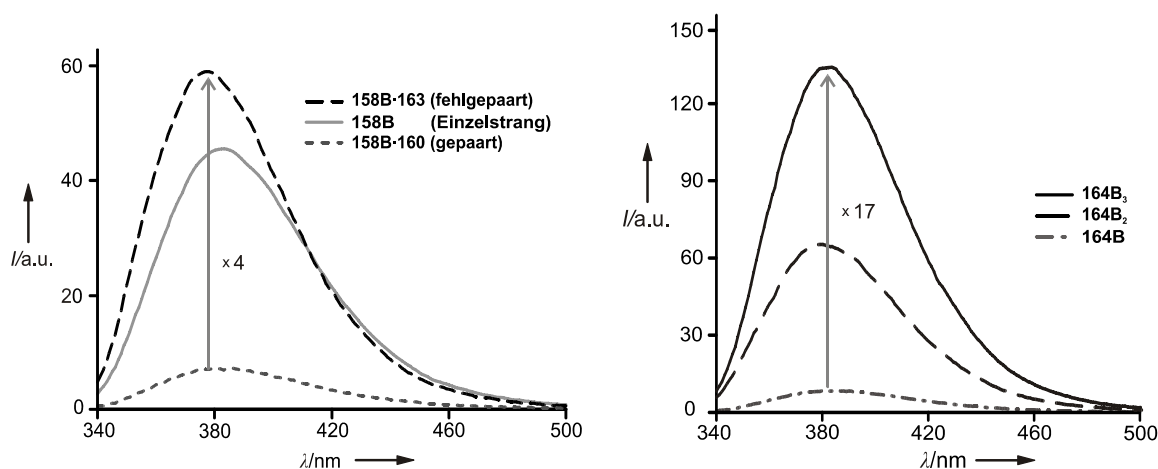


Abbildung 73: Fluoreszenzspektren von A) dem Einzelstrang **158B** und dem vollständig und einzelfehlgepaarten Duplexen **158B·163** und **158B·160** und B) Binaphthyl-haltigen DNA-Einzelsträngen.

Durch Einführung eines zweiten oder dritten Fluorophors in **164B₂** oder **164B₃** erhöhte sich die Fluoreszenz deutlich. So fluoreszierte zum Beispiel das Oligonukleotid **164B₃** mit 17-fach höherer Intensität als das Oligonukleotid **164B**. Dieses Verhalten steht im Gegensatz zu den bisher beobachteten verringerten Fluoreszenzintensitäten bei der Einführung mehrerer planarer Fluorophore wie Pyren und Perylen.^[69,166] Vermutlich fungiert die erste Binaphthylbase als „Isolator“,^[70] wodurch die zweiten und dritten Binaphthylfluorophore vor dem Löschen durch die Pyrimidine geschützt werden.

5.2 Ausblick

In dieser Arbeit wurden verschiedene Wege zur Synthese von C-Nukleosiden über Friedel-Crafts-Alkylierung und Cuprat-basierte Glycosylierung aufgezeigt. Den Nutzen C-nukleosidisch modifizierter Oligonukleotide demonstrieren die Anwendungen als oligonukleotid-basierte Binder von DNA-Methyltransferasen und des Binaphthylnukleosides als eine nichtplanare Nukleobase mit interessanten Fluoreszenzeigenschaften.

Die hier angewandten Methoden zur Nukleosidsynthese bieten weitere Möglichkeiten zur Optimierung. Da die Cuprat-basierte Glycosylierung mit dem Chlorozucker **34** überwiegend die α -Anomere liefert, wäre es interessant, die ebenfalls gezeigte Umsetzung mit dem anomeren Acetat **145** weiter zu untersuchen, um auch nicht anomerisierbare Aromaten einsetzen zu können. Ein neuer Glycosyldonor, bei dem die Unterseite durch eine sterisch anspruchsvolle Schutzgruppe an der 3'-Position abgeschirmt ist, sollte zur überwiegenden oder sogar ausschließlichen Bildung der gewünschten β -anomeren Nukleoside führen. Dies setzt voraus, dass die anomere Stereochemie des Produktes unabhängig von der Stereochemie des Glycosyldonors ist.

Für die Ursachen der starken Bindung C-nukleosidisch modifizierter DNA an die DNA-Mtase *M.TaqI* konnte ein detailliertes Verständnis erarbeitet werden. Weitere Untersuchungen zu den Ursachen der *E.coli*-Dam-Bindung könnten hingegen durchgeführt werden. Eine offene Fragestellung ist z. B. die mögliche Vororientierung eines Basensurrogates wie Indol außerhalb des Duplex. Helfen könnten bei der Aufklärung der Struktur unter anderem die Fluoreszenz des Indols.

Die Arbeit mit dem nichtplanaren Binaphthylbasensurrogat kann um verschiedene Aspekte erweitert werden, wobei dabei modifizierte Binaphthyle zum Einsatz kommen sollten. Binaphthyle mit langwelligere Absorptionsbanden außerhalb des Bereiches der Absorption durch die Nukleobasen bieten sich für die Messung von CD-Spektren an. Diese könnten nähere Aussagen zu Struktur und Helizität der modifizierten Oligonukleotide zulassen. Die Einführung einer stabilen axialen Chiralität über Substituenten an der 2- und 2'-Position des Binaphthyls würde weitere interessante Möglichkeiten eröffnen. Die resultierenden dreidimensionalen chiralen Nukleobasen könnten nützliche Werkzeuge z. B. zur Fluoreszenz-basierenden Diagnose der Gängigkeit von Nukleinsäure-Helices oder zu weiteren Fluoreszenz-basierten Anwendungen, wie der Erkennung von Einzelbasenpolymorphismen dienen.

6 Experimenteller Teil

6.1 Messgeräte und Hilfsmittel

Reagenzien und Chemikalien für die Darstellung der Phosphoramidite wurden von *Aldrich*, *Acros*, *Fluka* und *Lancaster* bezogen und ohne weitere Aufreinigung verwendet. Das Bis(diisopropylamino)(2-cyanoethoxy)phosphin wurde von *EMP Biotech* (Berlin, Deutschland) bezogen. Für die Cuprat-vermittelten Reaktionen wurde Kupferiodid (99.995%) von *Aldrich* verwendet. Das Lösungsmittel Dichlormethan wurde frisch von Calciumhydrid (CaH) destilliert, THF und Diethylether von Natrium und Benzophenon. Im Verlauf der Arbeit konnten die wasserfreien Lösungsmittel aus einer Lösungsmitteltrocknungsanlage *MB SPS 800* der Firma *M.BRAUN Labortechnische Geräte* entnommen werden. Die Lösungsmittel und die Reagenzien zur DNA-Synthese 0.45 M Tetrazol-Aktivator, 0.2 M Iod/Pyridin/THF, CAP A (THF/Pyridin/Acetanhydrid 8:1:1) und CAP B (16 % 1-Methyl-imidazol in THF) wurden entweder von *Applied Biosystems* oder von *Carl Roth* bezogen. Die Phosphoramidite (dA^{Bz}, dG^{dmf}, dT, dC^{Bz}) und die CPG's wurden entweder von *Applied Biosystems* oder von *Link Technologies* bezogen. Das N^{Me}-2'-Desoxyadenosin-Phosphoramidit wurde von *Link Technologies* erworben. Unmodifizierte oder mit 2'-Aminopurin modifizierte DNA-Oligomere wurden von *Biotez* (Berlin-Buch) und dSpacer-modifizierte DNA-Oligomere von *MWG-Biotech* in HPLC-Qualität geliefert. Für wässrige Lösungen wurde Wasser der Qualitätsstufe Milli-Q-Pore verwendet. Zur Wasseraufbereitung diente eine Millipore-Anlage der Firma *Membrapure*.

Für die DC wurden Kiesel 60 F₂₅₄ Dünnschichtchromatographie-Platten der Firma *Merck* verwendet. Zur Detektion diente UV-Licht der Wellenlänge $\lambda = 254$ nm, sowie als Anfärbe-reagenzien 5% ethanolische Schwefelsäure für Zuckerverbindungen oder Seebach-Reagenz (2.5g Molybdatophosphorsäure, 1g Cer(IV)sulfat, 6 ml konz. Schwefelsäure, 94 ml Wasser). Die Reinigung der Produkte erfolgte an Kieselgel 60 der Fa. Merck, Korngröße 0.040 – 0.063 mm bzw. 0.063 – 0.200 mm. Alternativ wurde basisches Aluminiumoxid (Aktivitätsstufe I) von *Merck* verwendet.

Alle NMR-Messungen wurden auf einem *Bruker DPX 300* oder einem *Bruker AV 400* Spektrometer gemessen. ¹H-NMR-Spektren wurden auf die Restprotonensignale der

jeweiligen deuterierten Lösungsmittel kalibriert. ^{31}P -NMR-Spektren wurden mit H_3PO_4 als externer Referenz kalibriert. Die chemischen Verschiebungen δ sind in ppm und die Kopplungskonstanten J in Hz angegeben. Die Spinmultiplizitäten wurden wie folgt abgekürzt: s = singulett, d = dublett, t = triplett, m = multipllett, br = breites Signal. Die Schmelztemperatur von Feststoffen wurde mit einem Boetius Apparat von *Nagema-Rapido* bestimmt und sind nicht korrigiert. MS-Spektren wurden auf einem Finnigan LTQ FT Massenspektrometer gemessen. Die MALDI-TOF-Massenspektren wurden auf einer *Voyager-DE Pro Biospectrometry Workstation* der Firma *PerSeptive Biosystems* (Foster City, USA) gemessen. Zur Ionisierung wurde ein Stickstoff-UV-Laser der Wellenlänge $\lambda = 337 \text{ nm}$ verwendet. Folgende Einstellungen wurden verwendet: Accelerating voltage 25 kV, Grid 93.5 %, Guide wire 0.15 %, Delay time 200-400 ns. Als Matrix diente eine Lösung aus 3-Hydroxypicolinsäure (gesättigte Lösung in Wasser/Acetonitril 1:1) und Diammoniumcitrat (50 mg/ml in Wasser) im Verhältnis 1:1. Neben den reinen Oligonukleotiden wurden auch Massenspektren mit den T14 (4196.77 g/mol) oder T18-Sequenzen (5413.55) als internem Standard gemessen. Die Messungen wurden im Negativ-Ionen-Modus durchgeführt.

Für die präparative HPLC-Trennung des 2-Biphenylnukleosides wurde ein Gerät der Serie 1100 der Firma Agilent verwendet. Zur Trennung wurde eine *Macherey & Nagel* RP-C18 VP 250/21 *Nucleodour C18 Gravity*-Säule verwendet. Als mobile Phase wurde eine binäre Mischung aus A (99% H_2O / 1% Acetonitril) and B (99 % Acetonitril/ 1 % H_2O) verwendet. Die Flussrate betrug 13 ml/min. Die Produkte wurden in folgendem Gradienten eluiert: 0 - 30 min (30 – 40 % B). Die Detektion erfolgte über die UV Absorption bei 280 nm. Für die analytische HPLC wurde ein Gerät der Agilent 1100 Serie verwendet. Als Trennmaterail wurde eine auf 55 °C temperierte RP-C18 Säule CC 125/4 *Nucleosil C18Gravity* der Firma *Macherey&Nagel* verwendet. Die Flussrate betrug 1 ml/min. Die Detektion erfolgte photometrisch bei einer Wellenlänge von $\lambda = 254 \text{ nm}$. Als mobile Phase wurde ein binäres Gemisch aus A (98.9% H_2O / 1% Acetonitril/ 0.1% Ameisensäure) und B (98.9 % Acetonitril/ 1 % H_2O / 0.1 % Ameisensäure) verwendet.

- Gradient 1: 0-20 min, 3-80 % B.
- Gradient 2 0-20 min, 3-90 % B.

Die Umkehrphasen-HPLC von Oligonukleotiden wurde auf einem *Gilson 1105 HPLC-System* durchgeführt. Die Detektion der Signale erfolgte mittels eines UV-Detektors bei den Wellenlängen von $\lambda = 260 \text{ nm}$ und $\lambda = 290 \text{ nm}$. Die Trennsäulen wurden auf 55°C temperiert. Als

Trennmateriel für die semipräparative HPLC wurde eine *Varian Polaris C₁₈-A 5µM 250/10-*Säule bei einer Flussrate von 3.5 ml/min verwendet. Die analytische HPLC erfolgte entweder über eine *Varian Polaris C₁₈-A 5µM 250/4.6* oder über eine *Waters Xbridge C18 5µm 4.6x250mm* bei einer Flussrate von 1.0 ml/min. Als mobile Phase wurde ein binäres Gemisch aus A (0.1 M TEAA, pH 7.0) und B (Acetonitril) verwendet. Folgende HPLC-Gradienten wurden für die semipräparative HPLC verwendet: Trityl-on-Reinigung der Oligonukleotide 0 - 4 min 5 % B, 4 - 24 min linearer Gradient von B in A, angepasst an den Retentionskoeffizienten. Trityl-off-Reinigung der Oligonukleotide 0 - 1 min 3 % B, 1-26 min linearer Gradient von B in A, angepasst an den Retentionskoeffizienten. Folgende HPLC-Gradienten wurden für die analytische HPLC verwendet:

- Gradient 3: 0-1 min 3% B, 1-26 min 3-25 % B.
- Gradient 4: 0-1 min 3% B, 1-26 min 3-30 % B.
- Gradient 5: 0-1 min 3% B, 1-26 min 3-60 % B.

UV-VIS-Spektren wurden an einem *Varian Cary 100 Bio* Spektrometer in 1 ml *Halbmikroküvetten 114QS* der Firma *Hellma* gemessen. Für die Bestimmung der Extinktionskoeffizienten der C-Nukleoside wurden diese in 10 nM Konzentration in Methanol gelöst. Der angegebene Wert ist der Mittelwert aus mindestens zwei unabhängigen Messungen. Die Fluoreszenzspektren wurden an einem *Varian Cary Eclipse* Fluoreszenzspektrometer in 1 ml *Halbmikroküvetten Suprasil* der Firma *Hellma* gemessen. Angaben zu den Messbedingungen finden sich bei den Beschreibungen der Versuche.

6.2 Monomersynthesen

Aromaten

Die Verbindungen 1,4-Dibromnaphthalin **113**,^[174] Phosphoniumsalz **119**,^[141] 7-Brom-(2-methyl)naphthalin **121**,^[141] 3-Bromphenoxytriisopropylsilan **126**,^[140] 4-Bromphenoxytriisopropylsilan **128**,^[140] Phenoxytriisopropylsilan **130**^[140] und *N*-Benzoyl-Indol **132**^[175] sind in der Literatur beschrieben und vollständig charakterisiert worden. Bei den von mir dargestellten Substanzen konnte Übereinstimmung mit der Literatur festgestellt werden.

4-Brom-[1,1']-binaphthyl 114^[138]

Entsprechend der Vorschrift von Scherf und Müllen wurden unter Schutzgas 1,5-Dibromnaphthalin **113** (1.4 g, 5.0 mmol) in Toluol (10 ml) gelöst und 1-Naphthylboronsäure (0.95 g, 5.50 mmol), entgaste wässrige 2 M Kaliumcarbonat-Lösung (10 ml) und Pd(PPh₃)₄ (143 mg, 0.125 mmol) hinzugefügt und für 24 h bei 100°C gerührt. Es wurde mit 10 %iger, wässriger NH₄Cl-Lösung hydrolysiert und anschließend 3x mit CH₂Cl₂ (je 40 ml) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden 3x mit gesättigter NaHCO₃-Lösung (je 40 ml), anschließend mit gesättigter NaCl-Lösung (40 ml) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Die weitere Reinigung erfolgte mittels Flash-Chromatographie (Cyclohexan/CH₂Cl₂ 0 %→20 %). Ausbeute: 1.12 g (3.36 mmol, 67 %) von farblosen Kristallen **114** (C₂₀H₁₃Br, M = 333.22 g·mol⁻¹).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 8.38 (d, *J* = 8.7, 1H), 8.01 – 7.97 (m, 2H), 7.94 (d, *J* = 8.1, 1H), 7.65 – 7.59 (m, 2H), 7.54 – 7.49 (m, 2H), 7.45 – 7.30 (m, 5H). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 138.6 (C_q), 137.5 (C_q), 134.1 (C_q), 133.5 (C_q), 132.7 (C_q), 131.9 (C_q), 129.5, 128.2, 128.1, 127.9, 127.4, 127.3, 127.2, 126.8, 126.3, 126.2, 125.9, 125.4, 122.6 (C_q, C-Br). MS(EI): *m/z* C₂₀H₁₃Br⁺ ber. 332.0 (M⁺), gef. 332.0. R_f: 0.43 (Hexan). Schmelzbereich: 116 – 128°C.

2,7-Dibromnaphthalin 116^[139]

Triphenylphosphin (16.4 g, 62.5 mmol) wurde in Acetonitril (50 ml) gelöst und auf einem Eisbad auf 0°C abgekühlt. Anschließend wurde langsam Brom (10.0 g, 62.5 mmol), gelöst in

Acetonitril, zugetropft. Nach Ende der Zugabe wurde für weitere 30 Minuten gerührt, 2,7-Dihydroxynaphthalin (5.0 g, 31 mmol) hinzugefügt und nach Abdestillieren des Acetonitrils das Gemisch für 3 h auf 250°C erhitzt. Zur Aufarbeitung wurde NaHCO₃-Lösung zugegeben und 3x mit CH₂Cl₂ (je 40 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden 3x mit gesättigter NaHCO₃-Lösung (je 40 ml) und mit gesättigter NaCl-Lösung (40 ml) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Die weitere Reinigung erfolgte mittels Flash-Chromatographie (Cyclohexan). Ausbeute: 804 mg (2.81 mmol, 9 %) eines farblosen Feststoffes **116** (C₁₀H₆Br₂, M = 285.96 g·mol⁻¹).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 7.91 (d, *J* = 1.8, 2H, H1, H8), 7.68 (d, *J* = 8.9, 2H, H4, H5), 7.57 (dd, *J* = 8.9, *J* = 1.8, 2H, H3, H6). ¹³C-NMR: (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 135.4 (C_q, C10), 130.2 (C_q, C9), 129.7, 129.5, 129.0, 121.0 (C_q, C-Br). MS(EI): *m/z* C₁₀H₆Br₂⁺ ber. 283.9 (M⁺), gef. 283.9. Schmelzpunkt: 142°C. R_f: 0.38 (Cyclohexan).

2-Brom(7-phenyl)naphthalin **117**^[176]

In einem Schlenkrohr wurde Dioxan (10 ml) durch mehrmaliges Einfrieren und Auftauen am Hochvakuum entgast. Anschließend wurden unter Argon 2,7-Dibromnaphthalin **116** (784 mg; 2.74 mmol), Phenylboronsäure (419 mg, 3.00 mmol), entgaste wässrige 2 M Ba(OH)₂-Lösung (10 ml) und Pd(PPh₃)₄ (156 mg, 0.137 mmol) hinzugefügt und für 24 h bei 80°C gerührt. Es wurde mit 10 %iger, wässriger NH₄Cl-Lösung hydrolysiert und 3x mit CH₂Cl₂ (je 40 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden 3x mit gesättigter NaHCO₃-Lösung (je 40 ml) und mit gesättigter NaCl-Lösung (40 ml) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Die weitere Reinigung erfolgte mittels Flash-Chromatographie (Cyclohexan). Ausbeute: 500 mg (1.76 mmol, 65 %) eines farblosen Feststoffes **117** (C₁₆H₁₁Br, M = 283.16 g·mol⁻¹).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 7.95 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.77 (d, *J* = 9.0, 1H), 7.66 – 7.57 (m, 4H), 7.46 – 7.30 (m, 4H). ¹³C-NMR: (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 143.2 (C_q, C1'), 136.9 (C_q), 133.5 (C_q), 132.7 (C_q), 130.3, 130.3, 130.2, 128.5, 128.2, 127.6, 126.4, 126.2, 125.9, 125.1, 122.9 (C_q, C-Br). HRMS(EI): *m/z* C₁₆H₁₁Br⁺ ber. 282.0044 (M⁺), gef. 282.0042. Schmelzpunkt: 100 – 101°C. R_f: 0.23 (Cyclohexan).

2-Iodanthracen 124^[142]

Zu 2-Aminoanthrachinon (10 g, 0.045 mol), suspendiert in 10%iger NaOH-Lösung (100 ml) wurde Zinkpulver (8 g) gegeben. Nach einstündigem Rühren, wurde auf 90°C erhitzt und es wurden in 2 Portionen weitere 10 g Zinkpulver hinzugefügt. Am nächsten Tag wurde mit Ethylacetat extrahiert, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. R_f -Wert(2-Aminoanthracen): 0.50 (CH_2Cl_2).

Zu dem in 40 % wässriger H_2SO_4 (23 ml H_2SO_4 , 32 ml H_2O) gelösten Rückstand wurden Eis (72 g) und NaNO_2 (8 g, 0.115 mol) gelöst in Wasser (35 ml) zugegeben. Nach Zugabe von Kaliumiodid (32 g, 0.193 mol) in Wasser (43 ml) bei -10°C wurde das Gemisch für 1 Stunde auf 50°C erwärmt. Nach Extraktion mit Ethylacetat wurde auf Kieselgel aufgezogen und über Kieselgel chromatographiert (Cyclohexan/ CH_2Cl_2 = 9:1). Ausbeute: 4.86 g (16.0 mmol, 36 %) eines farblosen Feststoffes ($\text{C}_{14}\text{H}_9\text{I}$, $M = 304.13 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$).

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 8.46$ (s, 1H, H1), 8.40 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.05 – 7.95 (m, 2H, H6, H9), 7.76 (d, $J = 7.6$, 1H, H4), 7.66 (dd, $J = 8.9$, $J = 1.7$, 1H, H3), 7.53 – 7.45 (m, 2H, H7, H8). ^{13}C -NMR: (75 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 136.8$ (C1), 133.6 (C3), 132.9 (C_q , C11), 131.9 und 131.8 (C_q , C13 + C14), 129.8 (C_q , C12), 129.6 (C4), 128.2, 128.1, 126.5, 125.9, 125.8, 125.1, 91.1 (C-I). R_f : 0.39 (Cyclohexan).

Friedel-Crafts-Alkylierung**Allgemeine Vorschriften**

Vorschrift 1: Pyren (107 mg, 0.53 mmol) und 1-*O*-Methyl-3,5-di-*O*-toluoyl-2-desoxyribofuranose **133** (102 mg, 0.265 mmol) wurden in trockenem Dichlorethan (3 ml) gelöst. Es wurde auf einem Eisbad auf 0°C abgekühlt und unter Rühren SnCl_4 (15.5 μl , 0.132 mmol) hinzugefügt. Nach 20 min wurde wässrige NaHCO_3 -Lösung (10 ml) hinzugegeben und 3x mit CH_2Cl_2 (20 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden 2x mit wässriger gesättigter NaHCO_3 -Lösung (je 20 ml) und gesättigter NaCl-Lösung (20 ml) gewaschen und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung (Cyclohexan: Ethylacetat = 19:1) wurden 57 mg (0.10 mmol; 39%) β -1',2'-Di-desoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(1-pyrenyl)ribofuranose **134a β** als farbloser Schaum und 42 mg Mischfraktionen isoliert, welche überwiegend das α -Epimer (0.07 mmol; 14%)

α -1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-tolyl-1'-(1-pyrenyl)ribofuranose **134a α** , sowie als Verunreinigung **134a β** enthielten.

Vorschrift 2: Auf einem Eisbad wurden zu einer Lösung von Chlorozucker **34** (81 mg, 0.21 mmol) und Pyren (93 mg, 0.47 mmol) in trockenem CH_2Cl_2 (3 ml) unter Rühren Silbertetrafluorborat AgBF_4 (45 mg, 0.23 mmol) hinzugefügt. Nach 2 h bei 0°C wurde gesättigte NaHCO_3 -Lösung (10 ml) hinzugegeben und 3x mit CH_2Cl_2 (10 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden 2x mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung (je 20 ml) und gesättigter NaCl -Lösung gewaschen und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung (Cyclohexan:Ethylacetat = 19:1) wurden 65 mg (0.11 mmol; 57%) α,β -1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(1-pyrenyl)ribofuranose **134a $\alpha\beta$** isoliert.

Vorschrift 3: Zu einer auf einem Eis-Salzbad auf -15°C abgekühlten Lösung von 1-Methylnaphthalin (218 μl , 1.56 mmol), Methoxyzucker **133** (200 mg, 0.52 mmol) und Silbertrifluoracetat (172.3 mg, 0.78 mmol) in trockenem Dichlorethan (3 ml) wurden SnCl_4 (61 μl , 0.52 mmol) hinzugefügt und 10 min gerührt. Anschließend wurde wässrige NaHCO_3 -Lösung (10 ml) hinzugegeben und 3x mit CH_2Cl_2 (je 20 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden 2x mit wässriger gesättigter NaHCO_3 -Lösung (je 20 ml) und gesättigter NaCl -Lösung (20 ml) gewaschen und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung (Cyclohexan:Ethylacetat = 19:1) wurden 96 mg (0.19 mmol; 37%) β -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(1-(4-methyl)naphthyl)ribofuranose **134g β** und 35 mg (0.07 mmol; 14%) α -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(1-(4-methyl)naphthyl)ribofuranose **134g α** als farblose Öle isoliert.

1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(1-pyrenyl)ribofuranose **134a**

Die Darstellung von **134a $\alpha\beta$** ($\text{C}_{37}\text{H}_{30}\text{O}_5$, $M = 554.63 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) wird in Vorschrift 1 und Vorschrift 2 beschrieben.

*β -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(1-pyrenyl)ribofuranose*

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 8.22$ (d, $J = 8.1$, 1H, Ar), 8.16 (d, $J = 9.3$, 1H, Ar), 8.07 – 7.95 (m, 11H, Ar), 7.32 (d, $J = 8.0$, 2H, Tol), 7.17 (d, $J = 8.3$, 2H, Tol), 6.29 (dd, $J_{\text{H}1',\text{H}2'\alpha} = 10.7$, $J_{\text{H}1',\text{H}2'\beta} = 4.9$, 1H, $\text{H}1'$), 5.74 (dd, $J = 5.1$, $J_{\text{H}3',\text{H}4'} = 1.9$, 1H, $\text{H}3'$), 4.84 – 4.80 (t, $J = 3.4$, 2H, $\text{H}5'$), 4.75 – 4.71 (td, $J_{\text{H}4',\text{H}5'} = 3.5$, $J_{\text{H}3',\text{H}4'} = 2.3$, 1H, $\text{H}4'$), 2.89 (ddd, $J_{\text{H}2'\alpha,\text{H}2'\beta}$

= 13.9, $J_{H1',H2'\beta} = 5.1$, $J_{H3',H2'\beta} = 0.8$, 1H, H2' α), 2.43 – 2.36 (m, 1H, H2' β), 2.45 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.36 (s, 3H, Ar-CH₃). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 166.5 (C_q, -COOR), 166.3 (C_q, -COOR), 144.3 (C_q, Tol), 143.9 (C_q, Tol), 134.0 (C_q, C1), 131.2 (C_q, Ar), 130.7 (C_q, Ar), 130.5 (C_q, Ar), 129.7 (CH, Tol), 129.6 (CH, Tol), 129.2 (CH, Tol), 129.1 (CH, Tol), 127.6, 127.5, 127.4, 127.1, 127.0, 126.9, 125.8, 125.2, 125.1, 125.0, 124.7 (C_q, Ar), 124.7 (C_q, Ar), 122.5, 122.2, 82.8 (C4'), 78.2 (C1'), 77.4 (C3'), 64.8 (C5'), 41.6 (C2'), 21.8 (Ar-CH₃), 21.7 (Ar-CH₃). HRMS(EI): m/z C₃₇H₃₀O₅⁺ ber. 554.2093 (M⁺), gef. 554.2093. R_f: 0.25 (Cyclohexan:Ethylacetat = 6:1).

*α -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(1-pyrenyl)ribofuranose*

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 8.34 (d, J = 7.8, 1H, Ar), 8.22 – 7.86 (m, 10H), 7.60 (d, J = 8.2, 2H, Ar), 7.27 (d, J = 8.1, 2H, Tol), 7.08 (d, J = 7.9, 2H, Tol), 6.39 (dd, $J_{H1',H2'\beta} = 7.6$, $J_{H1',H2'\alpha} = 5.8$, 1H, H1'), 5.77 – 5.71 (ddd, $J_{H3',H2'\beta} = 7.0$, $J_{H3',H2'\alpha} = 3.7$, $J_{H3',H4'} = 2.8$, 1H, H3'), 4.97 (td, $J_{H4',H5'} = 4.7$, $J_{H3',H4'} = 2.8$, 1H, H4'), 4.73 (t, $J_{H4',H5'} = 4.6$, 2H, H5'), 3.31 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta} = 13.5$, $J_{H1',H2'\beta} = 7.6$, $J_{H3',H2'\beta} = 7.0$, 1H, H2' β), 2.50 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta} = 13.5$, $J_{H1',H2'\alpha} = 5.8$, $J_{H3',H2'\alpha} = 3.7$, 1H, H2' α), 2.43 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.34 (s, 3H, Ar-CH₃). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 166.5 (C_q, -COOR), 166.1 (C_q, -COOR), 144.0 (C_q, Tol), 136.0 (C_q, Ar), 135.9 (C_q, Ar), 131.2 (C_q, Ar), 130.5 (C_q, Ar), 130.4 (C_q, Ar), 129.7 (CH, Tol), 129.5 (CH, Tol), 129.1 (CH, Tol), 128.8 (CH, Tol), 127.5, 127.3, 127.0, 126.9, 126.6, 125.8, 125.2, 125.0, 124.7, 122.6, 122.3, 82.6 (C4'), 78.4 (C1'), 76.5 (C3'), 64.8 (C5'), 40.6 (C2'), 21.8 (Ar-CH₃), 21.7 (Ar-CH₃). HRMS(ESI): m/z C₃₇H₃₀O₅Na⁺ ber. 577.1985 (M+Na⁺), gef. 577.1999. R_f: 0.16 (Cyclohexan:Ethylacetat = 6:1).

1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(4-triisopropylsilyloxyphenyl)ribofuranose 134b

Phenoxytriisopropylsilan **130** (257 mg, 1.03 mmol) wurde in trockenem CH₂Cl₂ gelöst und auf einem Eis-Salzbad auf -15°C abgekühlt. Anschließend wurden der Chlorozucker **34** (200 mg, 0.51 mmol) und BF₃•OEt₂ (82 μ l, 0.67 mmol) hinzugefügt und für 30 min gerührt. Da die Reaktion nicht vollständig war, wurden weitere 40 μ l BF₃•OEt₂ zugegeben und für eine weitere Stunde gerührt. Es wurde Triethylamin (160 μ l, 1.15 mmol) hinzugegeben und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung (Cyclohexan: Ethylacetat = 19:1) wurde das Produkt in 20 % Gesamtausbeute als Gemisch der Diastereomere **134ba** (C₃₆H₄₆O₅Si, M = 586.83 g·mol⁻¹) isoliert. Die

Selektivität bezüglich der Bildung von β - und α -Anomer wurde durch ^1H -NMR ermittelt und beträgt $\beta:\alpha = 4:1$.

β -1',2'-Didesoxy-3',5'-di-O-toluoyl-1'-(4-triisopropylsilyloxyphenyl)ribofuranose

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 8.03 - 7.97$ (m, 4H, Tol), $7.32 - 7.23$ (m, 6H, Ar), $6.89 - 6.84$ (m, 2H, H2), $5.65-5.61$ (dd, $J_{\text{H3}',\text{H2}'\beta} = 5.3$, $J_{\text{H3}',\text{H2}'\alpha} = 1.2$, 1H, H3'), 5.23 (dd, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\beta} = 10.9$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\alpha} = 4.9$, 1H, H1'), 4.68 (d, $J_{\text{H4}',\text{H5}'} = 4.1$, 2H, H5'), 4.56 (td, $J_{\text{H4}',\text{H5}'} = 4.1$, $J_{\text{H3}',\text{H4}'} = 2.0$, 1H, H4'), $2.56 - 2.48$ (dd, $J_{\text{H2}'\alpha,\text{H2}'\beta} = 13.7$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\alpha} = 4.9$, 1H, H2' α), 2.46 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.43 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.27 (ddd, $J_{\text{H2}'\alpha,\text{H2}'\beta} = 13.8$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\beta} = 11.0$, $J_{\text{H3}',\text{H2}'\beta} = 6.1$, 1H, H2' β), $1.33 - 1.21$ (m, 3H, -CH(CH₃)₂), 1.13 (d, $J = 6.8$, 18H, -CH(CH₃)₂). ^{13}C -NMR (75.5 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 166.3$ (C_q, -COOR), 166.0 (C_q, -COOR), 155.7 (C_q, C4), 143.9 (C_q, Tol), 143.6 (C_q, Tol), 132.7 (C_q, C4), 129.6 (CH, Tol), 129.1 (CH, Tol), 129.0 (CH, Tol), 127.8 (C_q, Tol), 127.1 (C3), 126.9 (C_q, Tol), 119.7 (C2), 82.7 , 80.6 (C1', C4'), 77.2 (C3'), 64.7 (C5'), 41.6 (C2'), 21.6 (Ar-CH₃), 21.5 (Ar-CH₃), 17.8 (CH₃, *i*Pr), 12.5 (CH, *i*Pr). HRMS(EI): m/z C₃₆H₄₆O₅Si⁺ ber. 602.3065 (M⁺), gef. 602.3067. R_f: 0.47 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

α -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-O-toluoyl-1'-(4-triisopropylsilyloxyphenyl)ribofuranose

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 7.97$ (d, $J = 8.2$, 2H, Tol), 7.81 (d, $J = 8.2$, 2H, Tol), 7.29 (d, $J = 8.5$, 2H, H3), $7.25 - 7.19$ (m, 4H, Tol), 6.88 (d, $J = 8.6$, 2H, H2), 5.61 (ddd, $J_{\text{H3}',\text{H2}'\beta} = 7.2$, $J_{\text{H3}',\text{H2}'\alpha} = 4.3$, $J_{\text{H3}',\text{H4}'} = 3.2$, 1H, H3'), 5.30 (t, $J = 6.9$, 1H, H1'), $4.72 - 4.68$ (m, 1H, H4'), $4.64 - 4.53$ (m, 2H, H5'), 2.93 (ddd, $J_{\text{H2}'\alpha,\text{H2}'\beta} = 13.9$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\beta} = 7.1$, $J_{\text{H3}',\text{H2}'\beta} = 7.1$, 1H, H2' β), 2.41 (s, 6H, Ar-CH₃), 2.30 (ddd, $J_{\text{H2}'\beta,\text{H2}'\alpha} = 13.6$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\alpha} = 6.7$, $J_{\text{H3}',\text{H2}'\alpha} = 4.4$, 1H, H2' α), $1.32 - 1.18$ (m, 3H, -CH(CH₃)₂), $1.12 - 1.07$ (m, 18H, -CH(CH₃)₂). ^{13}C -NMR (75.5 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 166.4$ (C_q, -COOR), 166.2 (C_q, -COOR), 155.5 (C_q, C1), 143.9 (C_q, Tol), 143.7 (C_q, Tol), 134.2 (C_q, C4), 129.7 (CH, Tol), 129.6 (CH, Tol), 129.0 (CH, Tol), 129.0 (CH, Tol), 127.0 (C_q, Tol), 126.9 (CH, C3), 126.7 (C_q, Tol), 119.6 (CH, C2), 81.7 , 80.0 (C1', C4'), 76.4 (C3'), 64.6 (C5'), 40.3 (C2'), 21.6 (Ar-CH₃), 17.8 (CH₃, *i*Pr), 12.5 (CH, *i*Pr). HRMS(EI): m/z C₃₆H₄₆O₅Si⁺ ber. 602.3065 (M⁺), gef. 602.3065. R_f: 0.44 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-(*N*-benzoyl)indolyl)ribofuranose 134c

Zu einer Lösung des *N*-Benzoylindols **132** (575 mg, 2.6 mmol) und des Chlorozuckers **34** (500 mg, 1.29 mmol) in trockenem CH₂Cl₂ (100 ml) wurde BF₃·OEt₂ (200 µl, 1.62 mmol; 1.25 eq.) hinzugefügt und es wurde für 75 min bei RT gerührt. Es wurde NaHCO₃-Lösung (10 ml) hinzugegeben, die Phasen getrennt, die wässrige Phase 2x mit CH₂Cl₂ (je 20 ml) extrahiert und die gesammelten organischen Phasen mit wässriger gesättigter NaHCO₃-Lösung (10 ml) und gesättigter NaCl-Lösung (10 ml) gewaschen. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung (Cyclohexan:Ethylacetat = 9:1) wurde das Produkt (C₃₆H₃₁NO₆, M = 573.63 g·mol⁻¹) in 45 % Gesamtausbeute (331 mg, 0.577 mmol) erhalten. Isoliert wurden 52 mg reines α-Anomer **134cα** als farbloser Schaum und 165 mg reines β-Anomer **134cβ** sowie 114 mg Mischfraktionen.

β-1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-(*N*-benzoyl)indolyl)ribofuranose

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 8.44 (d, *J* = 8.3, 1H, H7), 8.02 (d, *J* = 8.2, 2H, Tol), 7.91 (d, *J* = 8.2, 2H, Tol), 7.75 – 7.66 (m, 3H, Bz, H4), 7.63 – 7.57 (m, 1H, Bz), 7.51 – 7.46 (m, 2H, Bz), 7.43 – 7.38 (m, 1H), 7.36 (s, 1H, H2) 7.32 – 7.19 (m, 5H), 5.72 – 5.68 (m, 1H, H3'), 5.50 (dd, *J*_{H1',H2'} = 10.6, *J*_{H1',H2'} = 5.3, 1H, H1'), 4.73 (d, *J*_{gem.} = 11.8, *J*_{H4',H5'} = 3.8, 1H, H5'), 4.64 (d, *J*_{gem.} = 11.8, *J*_{H4',H5'} = 3.7, 1H, H5'), 4.59 – 4.54 (m, 1H, H4'), 2.65 (dd, *J*_{H2'β,H2'α} = 13.6, *J*_{H1',H2'β} = 5.4, 1H, H2'α), 2.55 – 2.46 (ddd, *J*_{H2'β,H2'α} = 13.8, *J*_{H3',H2'β} = 6.2, *J*_{H1',H2'β} = 10.8, 1H, H2'β), 2.46 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.43 (s, 3H, Ar-CH₃). ¹³C-NMR: (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 168.4 (C_q, Bz), 166.1 (C_q, Tol), 166.0 (C_q, Tol), 144.1 (C_q, Tol), 143.8 (C_q, Tol), 136.6 (C_q), 134.2 (C_q), 131.8 (CH, Bz), 129.6 (CH, Tol), 129.5 (CH, Tol), 129.1, 129.0, 129.0 (CH, Tol, Bz), 128.5 (C_q, C7a), 128.5 (CH, Bz), 126.8 (C_q, Tol), 126.7 (C_q, Tol), 125.2, 124.2, 123.7, 121.4, 119.7, 116.6, 82.7 (C4'), 76.9, 74.8 (C1', C3'), 64.4 (C5'), 39.6 (C2'), 21.6 (Ar-CH₃), 21.6 (Ar-CH₃). HRMS(EI): *m/z* C₃₆H₃₁NO₆⁺ ber. 573.2151 (M⁺), gef. 573.2152. R_f: 0.54 (Cyclohexan:Ethylacetat = 2:1).

α-1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-(*N*-benzoyl)indolyl)ribofuranose

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 8.43 (d, *J* = 6.5, 1H, H7), 7.98 (d, *J* = 8.2, 2H, Tol), 7.77 (d, *J* = 8.2, 3H, Tol, H4), 7.70 – 7.65 (m, 2H, Ph), 7.61 – 7.55 (m, 1H, Ph), 7.50 – 7.32 (m, 5H, Ph, H2, H5, H6), 7.26 – 7.19 (m, 4H, Tol), 5.66 – 5.56 (m, 2H, H1', H3'), 4.70 – 4.55 (m, 3H, H4', H5'), 3.00 (ddd, *J*_{H2'β,H2'α} = 14.5, *J*_{H1',H2'β} = 7.4, *J*_{H3',H2'β} = 7.4, 1H, H2'β), 2.52 (ddd, *J*_{H2'α,H2'β} = 13.7, *J*_{H1',H2'α} = 6.1, *J*_{H3',H2'α} = 3.9, 1H, H2'α), 2.43 (s, 6H, Ar-CH₃).

^{13}C -NMR: (75.5 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 168.5 (C_q , Bz), 166.3 (C_q , Tol), 166.1 (C_q , Tol), 144.1 (C_q , Tol), 143.8 (C_q , Tol), 136.8 (C_q), 134.3 (C_q), 131.8 (CH, Bz), 129.6 (CH, Tol), 129.5 (CH, Tol), 129.1 (CH, Tol, Bz), 128.9 (CH, Tol), 128.7 (C_q , C7a), 128.5 (CH, Bz), 126.9 (C_q , Tol), 126.6 (C_q , Tol), 125.2, 124.0, 123.9, 122.8, 119.7, 116.6 (C7, Indol), 81.7 ($\text{C4}'$), 76.4, 74.5 ($\text{C1}'$, $\text{C3}'$), 64.3 ($\text{C5}'$), 38.2 ($\text{C2}'$), 21.6 (Ar- CH_3). MS(EI): m/z $\text{C}_{36}\text{H}_{31}\text{NO}_6^+$ ber. 573.2151 (M^+), gef. 573.2151. R_f : 0.48 (Cyclohexan:Ethylacetat = 2:1).

1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-(*N*-phenylsulfonyl)indolyl)ribofuranose **134d**

Die Verbindungen **134daβ** ($\text{C}_{35}\text{H}_{31}\text{NO}_7\text{S}$, $M = 609.69 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) wurden entsprechend Vorschrift 1 synthetisiert. Als Aktivator wurden 2.3 Äq. SnCl_4 verwendet. Nach der säulen-chromatographischen Aufreinigung (Cyclohexan: Ethylacetat = 9:1) wurde das Produkt in 41 % Gesamtausbeute erhalten. Isoliert wurden 69 mg (0.11 mmol) reines α -Anomer **134da** als farbloser Schaum und 249 mg (0.41 mmol) reines β -Anomer **134dβ**.

*β -1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-(*N*-phenylsulfonyl)indolyl)ribofuranose*

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 8.04 – 7.96 (m, 5H, Tol, Ph, H7), 7.90 – 7.85 (m, 2H, Tol), 7.69 – 7.64 (m, 2H, H2, H4), 7.56 – 7.49 (m, 1H, Ph), 7.44 – 7.38 (m, 2H, Ph), 7.33 – 7.23 (m, 5H, Tol, H5 oder H6), 7.13 – 7.06 (m, 1H, H5 oder H6), 5.73 – 5.67 (m, 1H, H3'), 5.47 (dd, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 10.4$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 5.5$, 1H, H1'), 4.70 (d, $J_{\text{H4}',\text{H5}'} = 3.9$, 2H, H5'), 4.59 – 4.55 (m, 1H, H4'), 2.61 (ddd, $J_{\text{H2}'\beta,\text{H2}'\alpha} = 13.6$, $J_{\text{H3}',\text{H2}'\beta} = 5.5$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\beta} = 1.3$, 1H, H2' α), 2.55 – 2.46 (m, 1H, H2' β), 2.46 (s, 3H, Ar- CH_3), 2.43 (s, 3H, Ar- CH_3). ^{13}C -NMR: (75.5 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 166.2 (C_q , -COOR), 166.0 (C_q , -COOR), 144.1 (C_q , Tol), 143.8 (C_q , Tol), 138.0 (C_q , Ph), 135.4 (C_q , C3a), 133.7 (CH, Ph), 129.6 (CH, Tol), 129.6 (CH, Tol), 129.2 (CH, Tol), 129.1 (CH, Ph, Tol), 128.5 (C_q , C7a), 126.9 (C_q , Tol), 126.8 (C_q , Tol), 126.7 (CH, Ph), 124.9, 123.2, 123.0, 121.9, 120.4, 113.6, 82.8 ($\text{C4}'$), 76.7, 74.6 ($\text{C1}'$, $\text{C3}'$), 64.4 ($\text{C5}'$), 39.4 ($\text{C2}'$), 21.6 (Ar- CH_3). HRMS(EI): m/z $\text{C}_{35}\text{H}_{31}\text{O}_7\text{S}^+$ ber. 609.1822 (M^+), gef. 609.1822. R_f : 0.35 (Cyclohexan:Ethylacetat = 2:1).

*α -1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-(*N*-phenylsulfonyl)indolyl)ribofuranose*

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 8.03 – 7.98 (m, 3H, Tol, H7), 7.91 – 7.84 (m, 4H, Tol, Ph), 7.71 – 7.67 (m, 2H, H2, H4), 7.55 – 7.49 (m, 1H, Ph), 7.43 – 7.32 (m, 3H, Ph, H6), 7.29 – 7.22 (m, 5H, Tol, H5), 5.71 – 5.66 (m, 1H, H3'), 5.61 – 5.55 (m, 1H, H1'), 4.70 – 4.58 (m, 3H, H4', H5'), 3.00 (ddd, $J_{\text{H2}'\beta,\text{H2}'\alpha} = 13.9$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\beta} = 7.4$, $J_{\text{H3}',\text{H2}'\beta} = 7.4$, 1H, H2' β), 2.52

(ddd, $J_{H2'\alpha, H2'\beta} = 13.7$, $J_{H1', H2'\alpha} = 5.8$, $J_{H3', H2'\alpha} = 3.6$, 1H, H2' α), 2.44 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.42 (s, 3H, Ar-CH₃). ¹³C-NMR: (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): $\delta = 166.3$ (C_q, -COOR), 166.1 (C_q, -COOR), 144.0 (C_q, Tol), 143.8 (C_q, Tol), 138.0 (C_q, Ph), 135.4 (C_q, C3a), 133.7 (CH, Ph), 129.6 (CH, Tol), 129.6 (CH, Tol), 129.1, 129.1, 129.1 (CH, Tol, Ph), 128.7 (C_q, C7a), 126.9 (C_q, Tol), 126.7 (CH, Ph), 126.6 (C_q, Tol), 124.9, 123.3, 123.2, 122.9, 120.2, 113.5, 81.9 (C4'), 76.2, 74.2 (C1', C3'), 64.4 (C5'), 38.1 (C2'), 21.6 (Ar-CH₃). HRMS(EI): m/z C₃₅H₃₁O₇S⁺ ber. 609.1822 (M⁺), gef. 609.1822. R_f: 0.32 (Cyclohexan:Ethylacetat = 2:1).

1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(2-fluorenyl)ribofuranose **134e**

Die Verbindungen **134e $\alpha\beta$** (C₃₄H₃₀O₅, M = 518.60 g·mol⁻¹) wurden entsprechend Vorschrift 3 synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung (Cyclohexan: Ethylacetat = 19:1) wurde das Produkt in 49 % Gesamtausbeute erhalten. Isoliert wurden 10 mg (0.02 mmol) reines α -Anomer **134e α** als farbloser Schaum und 50 mg (0.10 mmol) reines β -Anomer.

*β -1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(2-fluorenyl)ribofuranose*

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 25°C): $\delta = 8.06 - 8.02$ (m, 4H, Tol), 7.77 (d, $J = 7.4$, 1H, H5), 7.73 (d, $J = 7.8$, 1H, H4), 7.61 (s, 1H, H1), 7.53 (d, $J = 7.3$, 1H, H8), 7.41 – 7.37 (m, 2H, H3, H6), 7.33 – 7.28 (m, 3H, H7, Tol), 7.22 (d, $J = 8.0$, 2H, Tol), 5.64 (dd, $J = 5.1$, $J_{H3', H4'} = 1.2$, 1H, H3'), 5.33 (dd, $J_{H1', H2'\alpha} = 10.9$, $J_{H1', H2'\beta} = 5.0$, 1H, H1'), 4.74 – 4.64 (m, 2H, H5'), 4.67 – 4.62 (td, $J_{H4', H5'} = 3.9$, $J_{H3', H4'} = 2.0$, 1H, H4'), 3.79 (d, 2H, CH₂), 2.56 (ddd, $J_{H2'\alpha, H2'\beta} = 13.7$, $J_{H1', H2'\alpha} = 5.0$, $J_{H3', H2'\alpha} = 0.7$, 1H, H2' α), 2.43 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.38 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.29 (ddd, $J_{H2'\alpha, H2'\beta} = 13.8$, $J_{H1', H2'\beta} = 11.0$, $J_{H3', H2'\beta} = 6.0$, 1H, H2' β). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): $\delta = 166.4$ (C_q, -COOR), 166.2 (C_q, -COOR), 144.2 (C_q, Tol), 143.9 (C_q, Tol), 143.7 (C_q), 143.4 (C_q), 141.6 (C_q), 141.4 (C_q), 139.3 (C_q), 129.8 (CH, Tol), 129.7 (CH, Tol), 129.2 (CH, Tol), 129.1 (CH, Tol), 127.1 (C_q, Tol), 127.0 (C_q, Tol), 126.7, 126.7, 125.0, 124.8, 122.5, 119.9, 119.8, 83.0, 81.2 (C1', C4'), 77.4 (C3'), 64.9 (C5'), 42.1 (C2'), 36.8 (CH₂, Fluoren), 21.8 (Ar-CH₃), 21.7 (Ar-CH₃), 19.6 (Ar-CH₃). HRMS(EI): m/z C₃₄H₃₀O₅⁺ ber. 518.2093 (M⁺), gef. 518.2092. MS(EI): m/z 518 (M⁺, 14%), 382 (M⁺-C₇H₇COOH, 4), 246 (M⁺-2C₇H₇COOH, 18), 169 (fluorenyl-(CO)⁺, 100). R_f: 0.42 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

*α -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(2-fluorenyl)ribofuranose*

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 7.98 (d, J = 8.2, 1H, Tol), 7.80 – 7.75 (m, 2H), 7.71 (d, J = 8.2, 1H, Tol), 7.64 (s, 1H, H1), 7.54 (d, J = 7.4, 1H), 7.44 – 7.36 (m, 2H), 7.33 – 7.24 (m, 3H), 7.10 (d, J = 8.0, 2H, Tol), 5.61 (m, 1H, H3'), 5.43 (t, J = 6.7, 1H, H1'), 4.75 (td, $J_{H4',H5'} = 4.8$, $J_{H3',H4'} = 3.0$, 1H, H4'), 4.64 – 4.55 (m, 2H, H5'), 3.86 (s, 2H, CH₂), 2.96 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta} = 14.0$, $J_{H1',H2'\beta} = 7.1$, $J_{H3',H2'\beta} = 7.1$, 1H, H2'β), 2.40 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.32 (s, 3H, Ar-CH₃). HRMS(EI): m/z C₃₄H₃₀O₅⁺ ber. 518.2093 (M⁺), gef. 518.2093. R_f: 0.37 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-benzothiophenyl)ribofuranose 134f

Die Verbindungen **134faβ** (C₂₉H₂₆O₅S, M = 486.58 g·mol⁻¹) wurden entsprechend Vorschrift 3 synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung (Cyclohexan:Ethylacetat = 19:1) wurde das Produkt in 45 % Gesamtausbeute erhalten. Das α -Anomer **134fa** enthält zu etwa 2/3 Methoxyzucker **133**.

 *β -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-benzothiophenyl)ribofuranose*

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 8.00 (d, J = 8.2, 2H, Tol), 7.93 (2H, d, J = 8.2, Tol), 7.86 (m, 2H, H4, H7), 7.46 (s, 1H, H2), 7.35-7.19 (m, 6H, Tol, H5, H6), 5.67 (d, J = 5.7, 1H, H3'), 5.59 (dd, $J_{H1',H2'\alpha} = 10.6$, $J_{H1',H2'\beta} = 5.2$, 1H, H1'), 4.74 – 4.64 (m, 2H, H5'), 4.58 (td, $J_{H4',H5'} = 3.8$, $J_{H3',H4'} = 2.3$, 1H, H4'), 2.68 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta} = 13.6$, $J_{H1',H2'\alpha} = 5.2$, $J_{H3',H2'\alpha} = 0.9$, 1H, H2'α), 2.44 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.39 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.50 - 2.40 (m, 1H, H2'β). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 166.4 (C_q, -COOR), 166.2 (C_q, -COOR), 144.2 (C_q, Tol), 143.9 (C_q, Tol), 141.0 (C_q, C7a), 137.1 (C_q, C3a), 135.6 (C_q, C3), 129.8 (CH, Tol), 129.7 (CH, Tol), 129.3 (CH, Tol), 129.2 (CH, Tol), 127.1 (C_q, Tol), 127.0 (C_q, Tol), 124.5 (C6), 124.1 (C5), 123.0 (C4), 122.6 (C2), 122.2 (C7), 82.8 (C4'), 77.0 (C3'), 76.9 (C1'), 64.6 (C5'), 39.7 (C2'), 21.8 (Ar-CH₃), 21.7 (Ar-CH₃). HRMS(ESI): m/z C₂₉H₂₆O₅SN⁺ ber. 509.1393 (M+Na⁺), gef. 509.1392. R_f: 0.38 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

 *α -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-benzothiophenyl)ribofuranose*

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 8.00 – 7.77 (m, 6H, Tol, H4, H7), 7.46 (s, 1H, H2), 7.26 – 7.16 (m, 6H, Tol, H5, H6), 5.64 – 5.57 (m, 2H, H1',H3'), 4.70 – 4.44 (m, 3H, H4' + H5'), 2.97 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta} = 13.8$, $J_{H1',H2'\beta} = 7.1$, $J_{H3',H2'\beta} = 7.1$, 1H, H2'β), 2.41 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.39 (s, 3H, Ar-CH₃). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 166.4 (C_q, -COOR),

166.2 (C_q, -COOR), 144.1 (C_q, Tol), 143.9 (C_q, Tol), 141.0 (C_q), 137.2 (C_q), 136.9 (C_q), 129.8, 129.7, 129.2, 129.1, 127.1, 126.8, 124.5, 124.2, 123.0, 122.3, 122.2, 82.0 (C4'), 77.3, 76.4 (C1', C3'), 64.6 (C5'), 38.3 (C2'), 21.7 (Ar-CH₃). HRMS(EI): *m/z* C₃₄H₃₀SO₅⁺ ber. 486.1501 (M⁺), gef. 486.1501. R_f: 0.33 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(1-(4-methyl)naphthyl)ribofuranose 134g

Die Darstellung von **134gaß** (C₃₂H₃₀O₅, M = 494.58 g·mol⁻¹) wird in Vorschrift 3 beschrieben.

β-1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(1-(4-methyl)naphthyl)ribofuranose

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 8.12 – 8.06 (m, 4H, Tol, H5, H8), 7.93 (d, *J* = 8.2, 2H, Tol), 7.66 (d, *J* = 7.3, 1H, H2), 7.56 – 7.46 (m, 2H, H6, H7), 7.32 – 7.27 (m, 3H, Tol, H3), 7.19 (d, *J* = 8.0, 2H, Tol), 6.01 (dd, *J*_{H1',H2'α} = 10.7, *J*_{H1',H2'β} = 5.0, 1H, H1'), 5.76-5.70 (m, 1H, H3'), 4.78 (d, *J* = 3.9, 2H, H5'), 4.73 - 4.68 (m, 1H, H4'), 2.84 (ddd, *J*_{H2'α,H2'β} = 13.8, *J*_{H1',H2'α} = 5.1, *J*_{H3',H2'α} = 1.1, 1H, H2'α), 2.72 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.49 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.43 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.38 (ddd, *J*_{H2'α,H2'β} = 13.8, *J*_{H1',H2'β} = 10.8, *J*_{H3',H2'β} = 6.2, 1H, H2'β). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 166.4 (C_q, -COOR), 166.1 (C_q, -COOR), 144.2 (C_q, Tol), 143.8 (C_q, Tol), 134.5 (C1), 134.1 (C4), 132.6 (C10), 130.4 (C9), 129.7 (CH, Tol), 129.6 (CH, Tol), 129.1 (CH, Tol), 129.0 (CH, Tol), 127.0 (C_q, Tol), 127.0 (C_q, Tol), 126.3 (C3), 125.6, 125.3 (C6, C7), 124.8 (C5), 123.4 (C8), 122.0 (C2), 82.5 (C4'), 77.9 (C1'), 77.2 (C3'), 64.6 (C5'), 40.7 (C2'), 21.7 (Ar-CH₃), 21.6 (Ar-CH₃), 19.6 (Ar-CH₃). HRMS(EI): *m/z* C₃₂H₃₀O₅⁺ ber. 494.2093 (M⁺), gef. 494.2094. MS(EI): *m/z* 494 (M⁺, 10%), 358 (M⁺-C₇H₇COOH, 8), 222 (M⁺-2C₇H₇COOH, 35), 169 (1-(4-methyl)naphthyl-(CO)⁺, 100). R_f: 0.40 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

α-1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(1-(4-methyl)naphthyl)ribofuranose

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 8.07 – 7.94 (m, 4H, Tol, H5, H8), 7.72 – 7.66 (m, 3H, Tol, H2), 7.57 – 7.48 (m, 2H, H6, H7), 7.35 (d, *J* = 7.2, 1H, H3), 7.27 (d, *J* = 8.0, 2H, Tol), 7.15 (d, *J* = 8.0, 2H, Tol), 6.07 (t, *J* = 6.7, 1H, H1'), 5.69 (ddd, *J*_{H3',H2'β} = 6.6, *J*_{H3',H2'α} = 3.4, *J*_{H3',H4'} = 3.4, 1H, H3'), 4.85 (td, *J*_{H4',H5'} = 4.7, *J*_{H3',H4'} = 2.9, 1H, H4'), 4.68 (m, 2H, H5'), 3.19 (ddd, *J*_{H2'α,H2'β} = 14.2, *J*_{H1',H2'β} = 7.3, *J*_{H3',H2'β} = 7.3, 1H, H2'β), 2.72 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.58 (ddd, *J*_{H2'α,H2'β} = 13.9, *J*_{H1',H2'α} = 7.1, *J*_{H3',H2'α} = 2.0, 1H, H2'α), 2.43 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.39 (s, 3H, Ar-CH₃). ¹³C-NMR: (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 166.4 (C_q, -COOR), 166.0

(C_q, -COOR), 143.8 (C_q, Tol), 143.8 (C_q, Tol), 136.0 (C_q), 133.9 (C_q), 132.8 (C_q), 130.1 (C_q), 129.7 (CH, Tol), 129.6 (CH, Tol), 129.1 (CH, Tol), 128.9 (CH, Tol), 127.1 (C_q, Tol), 126.8 (C_q, Tol), 126.1 (C3), 125.6, 125.3 (C6, C7), 124.9 (C5), 123.6 (C8), 122.0 (C2), 82.1 (C4'), 78.0 (C1'), 76.4 (C3'), 64.7 (C5'), 39.7 (C2'), 21.6 (Ar-CH₃), 21.6 (Ar-CH₃), 19.5 (Ar-CH₃). HRMS(EI): m/z C₃₂H₃₀O₅⁺ ber. 494.2093 (M⁺), gef. 494.2093. R_f: 0.34 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(4-(methylthio)phenyl)ribofuranose **134h**

Die Verbindungen **134haβ** (C₂₈H₂₈O₅S, M = 476.58 g·mol⁻¹) wurden entsprechend Vorschrift 3 synthetisiert. Es wurden 2 Äq. SnCl₄ verwendet. Die Reaktion wurde bei RT durchgeführt. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung (Cyclohexan:Ethylacetat = 19:1) wurde das Produkt in 33 % Gesamtausbeute erhalten. Das α-Anomer **134ha** enthält Methoxyzucker **133** im Verhältnis 1:1.3.

β-1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(4-(methylthio)phenyl)ribofuranose

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 7.98 (d, *J* 8.2, 2H, Tol), 7.94 (d, *J* 8.2, 2H, Tol), 7.33 – 7.19 (m, 8H, Ar), 5.60 (m, 1H, H3'), 5.21 (dd, *J*_{H1',H2'α} = 10.9, *J*_{H1',H2'β} = 5.1, 1H, H1'), 4.69 – 4.59 (m, 2H, H5'), 4.55 – 4.50 (m, 1H, H4'), 2.51 (dd, *J*_{H2'α,H2'β} = 14.0, *J*_{H1',H2'α} = 5.0, 1H, H2'α), 2.46 (s, 3H, -SCH₃), 2.43 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.40 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.21 (ddd, *J*_{H2'α,H2'β} = 13.8, *J*_{H1',H2'β} = 11.0, *J*_{H3',H2'β} = 6.1, 1H, H2'β). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 166.4 (C_q, -COOR), 166.1 (C_q, -COOR), 144.2 (C_q, Tol), 143.9 (C_q, Tol), 138.0 (C_q, Ar), 137.6 (C_q, Ar), 129.7 (CH, Tol), 129.6 (CH, Tol), 129.2 (CH, Tol), 129.1 (CH, Tol), 127.0 (C_q, Tol), 126.9 (C_q, Tol), 126.7 (CH, Ar), 126.5 (CH, Ar), 83.0 (C4'), 80.5 (C1'), 77.3 (C3'), 64.8 (C5'), 41.7 (C2'), 21.8 (Ar-CH₃), 21.7 (Ar-CH₃), 15.9 (-SCH₃). HRMS(ESI): m/z C₃₄H₃₀O₅Na⁺ ber. 499.1550 (M+Na⁺), gef. 499.1550. R_f: 0.41 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

α-1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(4-(methylthio)phenyl)ribofuranose

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 8.06 – 7.13 (m, 12H, Ar), 5.59 (m, 1H, H3'), 5.33 (t, *J* = 6.6, 1H, H1'), 4.67 (m, 1H, H4'), 4.58 – 4.50 (m, 2H, H5'), 2.91 (ddd, *J*_{H2'α,H2'β} = 14.0, *J*_{H1',H2'β} = 7.1, *J*_{H3',H2'β} = 7.1, 1H, H2'β), 2.48 (s, 3H, -SCH₃), 2.43 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.39 (s, 3H, Ar-CH₃). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 166.1 (C_q, -COOR), 166.1 (C_q, -COOR), 144.0 (C_q, Tol), 143.7 (C_q, Tol), 139.4 (C_q, Ar), 137.5 (C_q, Ar), 129.7 (CH, Tol),

129.7 (CH, Tol), 129.2 (CH, Tol), 129.1 (CH, Tol), 127.2 (C_q, Tol), 127.1 (C_q, Tol), 126.8 (C_q, Tol), 126.7 (CH, Ar), 126.2 (CH, Ar), 82.1 (C4'), 79.9 (C1'), 76.4 (C3'), 64.6 (C5'), 40.4 (C2'), 21.7 (Ar-CH₃), 16.1 (-SCH₃). HRMS(EI): m/z C₃₄H₃₀O₅⁺ ber. 476.1657 (M+Na⁺), gef. 476.1658. R_f: 0.35 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

(2R,3S)-2-Hydroxy-5,5-dipyrenylpentyl 1,3-ditoluoat **135**

Die Synthese erfolgte nach Vorschrift 2. Die Verwendung von Dichlorethan anstelle von CH₂Cl₂ führte zu Bildung von **135** (C₅₃H₄₀O₅, M = 756.88 g·mol⁻¹) in 22 % Ausbeute.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 8.57 (d, J = 9.3, 1H, Ar), 8.34 (d, J = 9.3, 1H, Ar), 8.32-7.93 (m, 15H, Ar), 7.85 (d, J = 9.3, 1H, Ar), 7.74 (m, 4H, Ar), 7.03 (m, 4H, Ar), 6.44 (t, $J_{H5,H4}$ = 7.2, 1H, H5), 5.56 (m, 1H, H3), 4.53 (dd, $J_{gem.}$ = 11.4, $J_{H1,H2}$ = 4.2, 1H, H1), 4.45 – 4.33 (m, 2H, H1, H2), 3.16 (t, J = 6.6, 2H, H4), 3.03 (br, 1H, -OH), 2.35 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.30 (s, 3H, Ar-CH₃). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 166.7 (C_q, -COOR), 166.4 (C_q, -COOR), 143.9 (C_q, Tol), 143.7 (C_q, Tol), 138.6 (C_q), 136.9 (C_q), 131.3, 131.3, 130.6, 130.6, 130.0, 129.9, 129.7, 129.6, 129.5, 128.9, 128.9, 128.2, 128.0, 128.0, 127.4, 127.0, 126.8, 126.6, 126.5, 125.8, 125.4, 125.3, 125.2, 125.1, 125.0, 124.9, 124.9, 124.8, 122.6, 122.3, 74.8, 72.1, 65.4 (C1), 38.6, 37.1, 21.6 (Ar-CH₃). HRMS(ESI): m/z C₅₃H₄₀O₅Na⁺ ber. 779.2768 (M+Na⁺), gef. 779.2768. R_f: 0.10 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

(2R,3S)-2-Hydroxy-5,5-di(1-(4-methyl)naphthyl)pentyl 1,3-ditoluoat **136**

Die Verbindung **136** (C₄₃H₄₂O₅, M = 638.79 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 3 synthetisiert. Es wurden 1.5 Äq. SnCl₄ verwendet. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung (Cyclohexan: Ethylacetat = 19:1) wurden 447 mg (0.70 mmol) **136** als farbloses Öl in 45 % Ausbeute isoliert.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 8.33 (d, J = 8.0, 1H, Ar), 8.02 – 7.98 (m, 2H, Ar), 7.94 – 7.91 (m, 3H), 7.84 (d, J = 8.2, 2H, Tol), 7.53 – 7.38 (m, 5H, Ar), 7.27 – 7.19 (m, 5H), 7.17 – 7.13 (m, 4H), 5.78 (t, $J_{H5,H4}$ = 7.2, 1H, H5), 5.44 – 5.40 (m, 1H, H3), 4.49 (dd, $J_{gem.}$ = 11.7, $J_{H1,H2}$ = 4.2, 1H, H1), 4.40 (dd, $J_{gem.}$ = 11.7, $J_{H1,H2}$ = 6.7, 1H, H1), 4.32 – 4.22 (m, 1H, H2), 3.03 (d, 1H, -OH), 2.82 – 2.78 (m, 2H, H4), 2.63 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.61 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.44 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.39 (s, 3H, Ar-CH₃). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 166.7 (C_q, -COOR), 166.5 (C_q, -COOR), 144.0 (C_q, Tol), 143.8 (C_q, Tol), 138.7 (C_q), 136.3 (C_q),

133.2 (C_q), 133.1 (C_q), 132.9 (C_q), 132.0 (C_q), 131.1 (C_q), 129.7 (CH, Tol), 129.7 (CH, Tol), 129.1 (CH, Tol), 129.0 (CH, Tol), 126.8, 126.7, 126.3, 126.1, 125.9, 125.8, 125.2, 125.1, 124.8, 124.7, 124.4, 123.7, 123.3, 74.9, 72.0 (C2, C3), 65.4 (C1), 37.2, 36.0 (C4, C5), 21.6 (Ar-CH₃), 21.6 (Ar-CH₃), 19.4 (Ar-CH₃), 19.4 (Ar-CH₃). MS(ESI): m/z C₄₃H₄₀O₅Na⁺ ber. 659.3 (M+Na⁺), gef. 659.3. R_f: 0.35 (Cyclohexan:Ethylacetat = 3:1).

Cuprat-vermittelte Synthese und Epimerisierung

Allgemeine Vorschriften

Vorschrift 4 (Synthese von C-Nukleosiden mit Normant-Cupraten): Für die Darstellung des Aryl-Grignard-Reagenzes, wurde Magnesium (54 mg, 2.2 mmol) durch Rühren mit einigen Kristallen Iod in einem ausgeheizten Schlenkrohr aktiviert. Anschließend wurden trockenes THF und 3-Brombiphenyl **140** (358 µl, 2.15 mmol) zugegeben und bei 44°C gerührt bis sich das Magnesium aufgelöst hatte. Nachdem die Lösung auf 0°C abgekühlt war, wurde Kupferiodid (215 mg, 1.13 mmol) hinzugefügt. Unter Erwärmen auf Raumtemperatur wurde anschließend für 30 min gerührt, während das Kupferiodid aufgelöst wurde. Die Lösung wurde auf 40°C erwärmt, der Chlorozucker **34** (365 mg; 0.94 mmol) hinzugefügt und für 1 h bei 40°C gerührt. Nach der Hydrolyse mit 10 %iger, wässriger NH₄Cl-Lösung wurde 3x mit CH₂Cl₂ (je 20 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden 3x mit gesättigter NaHCO₃-Lösung (je 20 ml), anschließend mit gesättigter NaCl-Lösung (20 ml) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Flash-Chromatographie (Cyclohexan:Ethylacetat = 19:1) ergab 400 mg (0.79 mmol, 84 %) von α,β-1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-biphenyl)ribofuranose **134kaβ** als farbloses Öl in einem mittels ¹H-NMR-Spektroskopie bestimmten Diastereomerenverhältnis von α:β = 1.6:1.

Vorschrift 5 (Synthese von C-Nukleosiden mit Gilman-Cupraten): Zu einer auf -78°C abgekühlten Lösung von 2-Iodanthracen **124** (1.8 g, 5.9 mmol), gelöst in 10 ml trockenem THF, wurden unter Rühren langsam über eine Glasspritze *tert*-Butyllithium (1.5 M in Pentan; 8.0 ml, 12 mmol) hinzugetropft. Nach 10 Minuten hatte sich die rote Lösung des Lithiumorganyls gebildet. Zu dem 2-Anthracenyllithium wurde unter vorsichtigem Rühren CuI (563 mg, 2.95 mmol; 99.995 % Acros) gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde innerhalb von 45 Minuten auf -25°C erwärmen gelassen. Anschließend wurde der Chlorozucker **34** (730

mg, 1.88 mmol) hinzugefügt. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei dieser Temperatur gerührt, mit 10 %iger, wässriger NH_4Cl -Lösung hydrolysiert und anschließend 3x mit CH_2Cl_2 (je 40 ml) extrahiert. Die gesammelten organischen Phasen wurden 3x mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung (je 40 ml), anschließend mit gesättigter NaCl -Lösung gewaschen (40 ml), über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Flash-Chromatographie (Cyclohexan:Ethylacetat = 19:1) ergab 473 mg (0.892 mmol, 47 %) von α,β -1',2'-Didesoxy-1'-(2-anthracenyl)-3',5'-di-*O*-toluoyl-ribofuranose **134qa β** . Die NMR-spektroskopisch anhand der $\text{H1}'$ -Signale bestimmte Selektivität beträgt $\alpha:\beta = 10:1$.

Vorschrift 6 (Epimerisierung): Zu einer Lösung des bistoluoylierten 3-Biphenylnukleosides **134ka β** (658 mg, 1.30 mmol) in CH_2Cl_2 (13 ml) wurden Trifluoressigsäure (2.5 ml) und Benzensulfonsäure (500 mg; 5:1) hinzugefügt. Nachdem 18 h bei 40°C gerührt wurde, wird auf 0°C, abgekühlt und langsam Triethylamin (10 ml) hinzugefügt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und die Anomere über eine Flash-Chromatographie (Cyclohexan:Ethylacetat = 19:1) getrennt. Ausbeute: 385 mg (0.760 mmol, 59 %) von β -1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-biphenyl)ribofuranose **134kb β** als farbloser Schaum und 146 mg (0.288 mmol, 22 %) α -1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-biphenyl)ribofuranose **134ka α** als farbloses Öl.

Vorschrift 7 (Synthese von Aryloxynukleosiden mit Gilman-Cupraten): Zu einer auf -78°C abgekühlten Lösung von 3-Bromtoluol (82 μl , 116 mg; 0.67 mmol), gelöst in trockenem THF (10 ml), wurde unter Rühren langsam über eine Glasspritze *tert*-Buthyllithium (1.5 M in Pentan; 0.9 ml, 1.35 mmol) hinzuge tropft. Nach 10 Minuten hatte sich die rote Lösung des Lithiumorganyls gebildet. Zu dem 2-Anthracenyllithium wurde unter vorsichtigem Rühren Kupferiodid (64.4 mg, 0.34 mmol; 99.995 % Acros) gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde innerhalb von 45 Minuten auf -25°C erwärmen gelassen. Anschließend wurde nach Abkühlen der Lösung auf -40°C des Chlorozuckers **34** (100 mg, 0.25 mmol) zugegeben und der Kolben mit Luft gefüllt. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei dieser Temperatur gerührt, mit 10 %iger, wässriger NH_4Cl -Lösung hydrolysiert und anschließend 3x mit CH_2Cl_2 (je 20 ml) extrahiert. Die gesammelten organischen Phasen wurden 3x mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung (je 20 ml), anschließend mit gesättigter NaCl -Lösung (20 ml) gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Flash-Chromatographie (Cyclohexan:Ethylacetat = 19:1) ergab 77 mg (0.16 mmol, 62 %) von α -1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-tolyloxy)ribofuranose **142aa** als

farbloses Öl und 31 mg (0.06 mmol, 25 %) von β -1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-tolyloxy) ribofuranose **142a β** als farbloses Öl.

1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-tolyl)ribofuranose **134i**

Die Verbindungen **134ia β** ($C_{28}H_{28}O_5$, $M = 444.52 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) wurden entsprechend Vorschrift 4 synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung (Cyclohexan:Ethylacetat = 9:1) wurde das Produkt **134ia β** in 87 % Gesamtausbeute (641 mg, 1.49 mmol) erhalten. Das mittels ^1H -NMR-Spektroskopie bestimmte Diastereomerenverhältnis betrug $\alpha:\beta = 1.5:1$. Alternativ konnte **134ia β** nach Vorschrift 5 synthetisiert werden. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung (Cyclohexan:Ethylacetat = 19:1) wurde das Produkt **134ia β** in 40 % Gesamtausbeute (135 mg, 0.31 mmol) erhalten. Das mittels ^1H -NMR-Spektroskopie bestimmte Diastereomerenverhältnis betrug $\alpha:\beta = 7:3$. Die Epimerisierung gemäß Vorschrift 6 mit 10 % TFA/Benzensulfonsäure (5:1) ergab 52 % β -Anomer (333 mg, 0.75 mmol) **134i β** und 20 % α -Anomer (128 mg, 0.29 mmol) **134ia**.

*β -1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-tolyl)ribofuranose*

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 8.03 - 7.97$ (m, 4H, Tol), $7.32 - 7.22$ (m, 7H), $7.13 - 7.10$ (m, 1H), 5.64 (d, 1H, $J = 5.0$, 1H, H_3'), 5.24 (dd, $J_{\text{H}_1',\text{H}_2'\beta} = 11.1$, $J_{\text{H}_1',\text{H}_2'\alpha} = 5.0$, 1H, H_1'), $4.64 - 4.54$ (m, 2H, H_5'), 4.45 (td, $J_{\text{H}_4',\text{H}_5'} = 3.7$, $J_{\text{H}_3',\text{H}_4'} = 1.9$, 1H, H_4'), 2.36 (s, 3H, Ar- CH_3), 2.32 (s, 3H, Ar- CH_3), 2.46 (ddd, $J_{\text{H}_2'\alpha,\text{H}_2'\beta} = 13.8$, $J_{\text{H}_1',\text{H}_2'\alpha} = 5.1$, $J_{\text{H}_3',\text{H}_2'\alpha} = 0.9$, 1H, $\text{H}_2'\alpha$), 2.20 (s, 3H, Ar- CH_3), $2.22 - 2.15$ (m, 1H, $\text{H}_2'\beta$). ^{13}C -NMR (75.5 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 166.3$ (C_q , -COOR), 166.1 (C_q , -COOR), 144.0 (C_q , Tol), 143.7 (C_q , Tol), 140.5 (C_q), 138.1 (C_q), 129.6 (CH, Tol), 129.1 (CH, Tol), 129.1 (CH, Tol), 128.6 , 128.3 , 127.1 (C_q , Tol), 127.0 (C_q , Tol), 126.4 , 123.0 , 82.9 , 80.8 (C_1' , C_4'), 77.3 (C_3'), 64.7 (C_5'), 41.7 (C_2'), 21.6 (Ar- CH_3), 21.6 (Ar- CH_3), 21.3 (Ar- CH_3). HRMS(EI): m/z $\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{O}_5^+$ ber. 444.1937 (M^+), gef. 444.1936. R_f : 0.49 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

*α -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-tolyl)ribofuranose*

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 8.01$ (d, $J = 8.2$, 2 H, Tol), 7.76 (d, $J = 8.2$, 2 H, Tol), $7.31 - 7.20$ (m, 7H), $7.15 - 7.11$ (m, 1H), 5.64 (ddd, 1H, $J = 6.8$, $J = 3.9$, $J = 3.0$, H_3' , 1H), 5.37 (dd, $J_{\text{H}_1',\text{H}_2'\beta} = 6.8$, $J_{\text{H}_1',\text{H}_2'\alpha} = 6.8$, 1H, H_1'), 4.74 (td, $J_{\text{H}_4',\text{H}_5'} = 4.7$, $J_{\text{H}_3',\text{H}_4'} = 2.9$, 1H, H_4'), $4.67 - 4.56$ (m, 2H, H_5'), 2.97 (ddd, $J_{\text{H}_2'\alpha,\text{H}_2'\beta} = 14.1$, $J_{\text{H}_1',\text{H}_2'\beta} = 7.2$, $J_{\text{H}_3',\text{H}_2'\beta} = 7.2$, 1H, $\text{H}_2'\beta$), 2.44 (s, 3H, Ar- CH_3), 2.42 (s, 3H, Ar- CH_3), 2.39 (s, 3H, Ar- CH_3), $2.38 - 2.31$ (m, 1H,

H2'α). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 166.3 (C_q, -COOR), 166.0 (C_q, -COOR), 143.8 (C_q, Tol), 143.7 (C_q, Tol), 142.2 (C_q), 137.9 (C_q), 129.6 (CH, Tol), 129.6 (CH, Tol), 129.0 (CH, Tol), 128.9 (CH, Tol), 128.2, 128.0, 127.0 (C_q, Tol), 126.8 (C_q, Tol), 126.2, 122.7, 82.0, 80.2 (C1', C4'), 76.3 (C3'), 64.5 (C5'), 40.2 (C2'), 21.5 (Ar-CH₃), 21.4 (Ar-CH₃). HRMS(EI): m/z C₂₈H₂₈O₅⁺ ber. 444.1937 (M⁺), gef. 444.1936. R_f: 0.43 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

α,β -1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(2-biphenyl)ribofuranose 134j

Die Verbindungen **134jaβ** (C₃₃H₃₀O₅, M = 506.59 g·mol⁻¹) wurden entsprechend Vorschrift 4 dargestellt. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung (Cyclohexan:Ethylacetat = 19:1) wurde ein farbloses Öl in 89 % Gesamtausbeute (609 mg, 1.20 mmol) erhalten.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 7.99 – 7.16 (m, 17H), 5.53 – 5.45 (m, 1H, H3'), 5.36 (dd, *J*_{H1',H2'α} = 7.4, *J*_{H1',H2'β} = 7.4, H1'(α-Epimer)), 5.36 (dd, *J*_{H1',H2'α} = 10.9, *J*_{H1',H2'β} = 6.0, 1H, H1'(β-Epimer)), 4.75 – 4.71 (m, H4'(α-Epimer)), 4.70 – 4.59 (m, H5'(β-Epimer)), 4.52 – 4.41 (m, H5'(α-Epimer)), 4.35 (td, *J*_{H4',H5'} = 3.9, *J*_{H3',H4'} = 2.5, H4'(β-Epimer)), 2.70 (ddd, *J*_{H2'β,H2'α} = 14.1, *J*_{H1',H2'} = 7.2, *J*_{H3',H2'} = 7.2, H2' (β-Epimer)), 2.44 (s, 6H), 2.31 – 2.11 (m, H2'). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 166.4 (C_q, -COOR), 166.1 (C_q, -COOR), 165.9 (C_q, -COOR), 144.0 (C_q), 143.9 (C_q), 143.8 (C_q), 143.6 (C_q), 141.0 (C_q), 140.8 (C_q), 140.7 (C_q), 140.7 (C_q), 139.4 (C_q), 137.9 (C_q), 129.9, 129.7, 129.6, 129.6, 129.2, 129.1, 129.0, 129.0, 128.2, 128.0, 127.9, 127.7, 127.4, 127.2, 127.1, 126.9, 126.8, 125.7, 125.6, 82.3, 81.9 (C1', C4'), 77.6 (C3'), 77.6 (C3'), 64.8 (C5'), 64.6 (C5'), 41.8 (C2'), 40.7 (C2'), 21.6 (Ar-CH₃). MS(EI): m/z C₃₃H₃₀O₅⁺ ber. 506.2 (M⁺), gef. 506.2. R_f: 0.35 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-biphenyl)ribofuranose 134k

Die Darstellung von **134kaβ** (C₃₃H₃₀O₅, M = 506.59 g·mol⁻¹) wird in Vorschrift 4 und die Epimierisierung in Vorschrift 6 beschrieben.

β-1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-biphenyl)ribofuranose

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 7.99 (d, *J* = 8.3, 2H, Tol), 7.93 (d, *J* = 7.9, 2H, Tol), 7.64 (s, 1H, H2), 7.54 – 7.47 (m, 3H), 7.40 – 7.31 (m, 5H), 7.27 (d, *J* = 8.0, 2H, Tol), 7.15 (d, *J* = 7.9, 2H, Tol), 5.64 (m, 1H, H3'), 5.32 (dd, *J*_{H1',H2'β} = 11.1, *J*_{H1',H2'α} = 5.1, 1H, H1'), 4.74 –

4.64 (m, 2H, H5'), 4.58 – 4.54 (m, 1H, H4'), 2.58 (dd, $J_{H2'\alpha, H2'\beta} = 13.9$, $J_{H1', H2'\alpha} = 4.9$, 1H, H2'α), 2.44 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.37 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.30 (ddd, $J_{H2'\beta, H2'\alpha} = 13.9$, $J_{H1', H2'\beta} = 11.3$, $J_{H3', H2'\beta} = 6.0$, 1H, H2'β). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 166.3 (C_q, -COOR), 166.1 (C_q, -COOR), 144.1 (C_q, Tol), 143.7 (C_q, Tol), 141.5 (C_q), 141.1 (C_q), 140.8 (C_q), 129.7 (CH, Tol), 129.6 (CH, Tol), 129.1 (CH, Tol), 129.1 (CH, Tol), 128.8, 128.6, 127.2, 127.1, 126.9 (C_q, Tol), 126.9 (C_q, Tol), 126.7, 124.8, 124.6, 83.1, 80.8 (C1', C4'), 77.3 (C3'), 64.7 (C5'), 41.9 (C2'), 21.7 (Ar-CH₃), 21.6 (Ar-CH₃). HRMS(ESI): m/z C₃₃H₃₀O₅Na⁺ ber. 529.1985 (M+Na⁺), gef. 529.1985. R_f: 0.38 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

α-1',2'-Dideoxy-3',5'-di-O-toluoyl-1'-(3-biphenyl)ribofuranose

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 7.98 (d, $J = 8.3$, 2H, Tol), 7.67 (s, 1H, H2), 7.71 – 7.67 (d, $J = 8.3$, 2H, Tol), 7.60 – 7.56 (m, 2H), 7.45 – 7.34 (m, 5H), 7.23 (d, $J = 7.5$, 2H, Tol), 7.08 (d, $J = 7.9$, 2H, Tol), 5.63 (ddd, $J = 6.4$, $J = 3.8$, $J = 3.0$, 1H, H3'), 5.43 (dd, $J_{H1', H2'\beta} = 7.3$, $J_{H1', H2'\alpha} = 5.8$, 1H, H1'), 4.72 (td, $J_{H4', H5'} = 4.8$, $J_{H3', H4'} = 2.9$, 1H, H4'), 4.67–4.56 (m, 2H, H5'), 2.98 (ddd, $J_{H2'\alpha, H2'\beta} = 13.9$, $J_{H1', H2'\beta} = 7.5$, $J_{H3', H2'\beta} = 6.7$, 1H, H2'β), 2.40 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.36 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.40 – 2.36 (m, 1H, H2'α). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 166.3 (C_q, -COOR), 166.1 (C_q, -COOR), 143.8 (C_q, Tol), 143.8 (C_q, Tol), 142.9 (C_q), 141.4 (C_q), 141.1 (C_q), 129.7 (CH, Tol), 129.6 (CH, Tol), 129.1 (CH, Tol), 128.9 (CH, Tol), 128.8, 128.6, 127.2, 127.2, 127.0 (C_q, Tol), 126.7 (C_q, Tol), 126.2, 124.6, 124.4, 82.2, 80.2 (C1', C4'), 76.4 (C3'), 64.5 (C5'), 40.3 (C2'), 21.6 (Ar-CH₃), 21.6 (Ar-CH₃). HRMS(ESI): m/z C₃₃H₃₀O₅Na⁺ ber. 529.1985 (M+Na⁺), gef. 529.1985. R_f: 0.34 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

1',2'-Didesoxy-3',5'-di-O-toluoyl-1'-(1-phenanthrenyl)ribofuranose 134l

Die Verbindungen **134lαβ** (C₃₅H₃₀O₅, M = 530.61 g·mol⁻¹) wurden entsprechend Vorschrift 4 synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung (Cyclohexan:Ethylacetat = 19:1) wurde das Produkt **134lβ** in 80 % Gesamtausbeute (172 mg, 0.32 mmol) erhalten. Die Epimerisierung gemäß Vorschrift 6 mit 6 % TFA/Benzensulfonsäure (5:1) ergab 58 % β-Anomer **134lβ** (100 mg, 0.19 mmol) und 28 % α-Anomer **134lα** (49 mg, 0.09 mmol).

β-1',2'-Dideoxy-3',5'-di-O-toluoyl-1'-(1-phenanthrenyl)ribofuranose

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 8.74 – 8.69 (m, 2H, H4, H5), 8.09 (d, $J = 8.2$, 2H, Tol), 8.00 – 7.90 (m, 5H, Tol, H2, H8, H10), 7.79 (d, $J = 9.2$, 1H, H9), 7.70 – 7.62 (m, 3H,

H3, H6, H7), 7.34 (d, $J = 7.9$, 2H), 7.22 (d, $J = 7.9$, 2H), 6.07 (dd, $J_{H1',H2'\beta} = 10.7$, $J_{H1',H2'\alpha} = 5.1$, 1H, H1'), 5.73 – 5.71 (m, 1H, H3'), 4.80 – 4.78 (m, 2H, H5'), 4.72 – 4.70 (m, 1H, H4'), 2.90 – 2.84 (m, 1H, H2'α), 2.49 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.41 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.40 – 2.32 (m, 1H, H2'β). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): $\delta = 166.4$ (C_q, -COOR), 166.2 (C_q, -COOR), 144.2 (C_q, Tol), 143.8 (C_q, Tol), 137.2 (C_q, C1), 131.4 (C_q), 130.6, 130.4, 129.8 (CH, Tol), 129.7 (CH, Tol), 129.1 (CH, Tol), 128.7 (C_q), 128.5 (C8), 127.2, 127.1 (C_q, Tol), 127.0 (C_q, Tol), 126.8, 126.6, 126.4, 123.0, 122.9, 122.4, 121.5, 82.7 (C4'), 78.0 (C1'), 77.2 (C3'), 64.7 (C5'), 41.0 (C2'), 21.7 (Ar-CH₃), 21.6 (Ar-CH₃). HRMS(EI): m/z C₃₅H₃₀O₅⁺ ber. 530.2093 (M⁺), gef. 530.2093. R_f: 0.38 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

α-1',2'-Dideoxy-3',5'-di-O-toluoyl-1'-(1-phenanthrenyl)ribofuranose

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): $\delta = 8.75 - 8.70$ (m, 2H, H4, H5), 8.09 (m, 2H, Tol), 7.97 – 7.90 (m, 2H, H2, H8), 7.89 (d, $J = 9.2$, 1H, H10), 7.80 (d, $J = 9.2$, 1H, H9), 7.73 – 7.62 (m, 5H, Tol, H3, H6, H7), 7.30 (d, $J = 7.9$, 2H, Tol), 7.15 (d, $J = 7.8$, 2H, Tol), 6.17 (dd, $J = 7.7$, $J = 5.7$, 1H), 5.74 – 5.70 (m, 1H), 4.91 (td, $J_{H4',H5'} = 4.8$, $J_{H3',H4'} = 2.8$, 1H, H4'), 4.72 – 4.65 (m, 2H), 3.30 – 3.21 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta} = 14.5$, $J_{H1',H2'\beta} = 7.8$, $J_{H3',H2'\beta} = 6.9$, 1H, H2'β), 2.49 – 2.45 (m, 4H, H2'α, Ar-CH₃), 2.39 (s, 3H, Ar-CH₃). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): $\delta = 166.4$ (C_q, -COOR), 166.0 (C_q, -COOR), 143.9 (C_q, Tol), 143.9 (C_q, Tol), 138.8 (C_q, C1), 131.4 (C_q), 130.6 (C_q), 130.6 (C_q), 129.8 (CH, Tol), 129.7 (CH, Tol), 129.2 (CH, Tol), 129.0 (CH, Tol), 128.5 (C8), 128.3 (C_q), 127.2, 127.1 (C_q, Tol), 126.8, 126.7 (C_q, Tol), 126.6, 126.1, 123.0, 122.9, 122.1, 121.6, 82.5 (C4'), 78.2 (C1'), 77.2 (C3'), 64.7 (C5'), 40.0 (C2'), 21.7 (Ar-CH₃), 21.6 (Ar-CH₃). HRMS(EI): m/z C₃₅H₃₀O₅⁺ ber. 530.2093 (M⁺), gef. 530.2093. R_f: 0.34 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

1',2'-Dideoxy-3',5'-di-O-toluoyl-1'-(3-phenanthrenyl)ribofuranose 134m

Die Verbindungen **134maβ** (C₃₅H₃₀O₅, M = 530.61 g·mol⁻¹) wurden entsprechend Vorschrift 4 synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung (Cyclohexan:Ethylacetat = 19:1) wurde das Produkt **134maβ** in 80 % Gesamtausbeute (172 mg, 0.32 mmol) erhalten. Die Epimerisierung gemäß Vorschrift 6 mit 6 % TFA/ Benzensulfonsäure (5:1) ergab 64 % β-Anomer **134mβ** (451 mg, 0.85 mmol) und 22 % α-Anomer **134ma** (159 mg, 0.30 mmol).

β -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-O-toluoyl-1'-(3-phenanthrenyl)ribofuranose

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 8.73 (s, 1H, H4), 8.59 (d, J = 8.3, J = 1.6, 1H, H5), 8.04 (d, J = 8.2, 2H, Tol), 8.02 (d, J = 8.2, 2H, Tol), 7.87 – 7.83 (m, 2H, H1, H8), 7.71 (s, 2H, H9, H10), 7.63 – 7.52 (m, 3H, H2, H6, H7), 7.30 (d, J = 8.0, 2H, Tol), 7.16 (d, J = 8.0, 2H, Tol), 5.72 – 5.69 (m, 1H, H3'), 5.54 (dd, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\beta}$ = 10.9, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\alpha}$ = 5.0, 1H, H1'), 4.83 (dd, $J_{\text{gem.}}$ = 11.8, $J_{\text{H5}',\text{H4}'}$ = 3.8, 1H, H5'), 4.74 (dd, $J_{\text{gem.}}$ = 11.8, $J_{\text{H5}',\text{H4}'}$ = 3.8, 2H, H5'), 4.65 (td, $J_{\text{H4}',\text{H5}'}$ = 3.8, $J_{\text{H3}',\text{H4}'}$ = 2.0, 1H, H4'), 2.68 (dd, $J_{\text{H2}'\beta,\text{H2}'\alpha}$ = 13.7, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\alpha}$ = 5.3, 1H, H2'α), 2.44 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.34 (s, 3H, Ar-CH₃) 2.44-2.34 (m, 1H, H2'β). $^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 166.4 (C_q, -COOR), 166.1 (C_q, -COOR), 144.1 (C_q, Tol), 143.7 (C_q, Tol), 138.8 (C_q, C3), 132.0 (C_q), 131.6 (C_q), 130.2 (C_q), 130.1 (C_q), 129.7 (CH, Tol), 129.6 (CH, Tol), 129.1 (CH, Tol), 129.1 (CH, Tol), 128.7, 128.4 (C1, C8), 127.0 (C_q, Tol), 126.9 (C_q, Tol), 126.9, 126.5, 126.4, 126.4, 124.3, 122.7 (C5), 119.7 (C4), 83.2, 81.2 (C1', C4'), 77.3 (C3'), 64.7 (C5'), 42.2 (C2'), 21.6 (Ar-CH₃), 21.5 (Ar-CH₃). HRMS(ESI): m/z C₃₅H₃₁O₅⁺ ber. 531.2166 (M+H⁺), gef. 531.2171. R_f: 0.38 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

 α -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-O-toluoyl-1'-(3-phenanthrenyl)ribofuranose

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 8.79 (s, 1H, H4), 8.73 – 8.70 (m, 1H, H4), 8.04 (d, J = 8.2, 2H, Tol), 7.92 – 7.89 (m, 2H, H1, H8), 7.75 (s, 2H, H9, H10), 7.67 – 7.60 (m, 3H, H2, H6, H7, Tol), 7.28 (d, J = 8.0, 2H, Tol), 6.97 (d, J = 8.0, 2H, Tol), 5.71 (ddd, J = 6.6, J = 3.3, J = 3.3, 1H, H3'), 5.67 (dd, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\beta}$ = 7.5, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\alpha}$ = 5.9, 1H, H1'), 4.88 (td, 1H, $J_{\text{H4}',\text{H5}'}$ = 4.8, $J_{\text{H3}',\text{H4}'}$ = 2.8, H4'), 4.72 – 4.64 (m, 2H, H5'), 3.10 (ddd, $J_{\text{H2}'\alpha,\text{H2}'\beta}$ = 14.1, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\beta}$ = 7.0, $J_{\text{H3}',\text{H2}'\beta}$ = 7.0, 1H, H2'β), 2.48 (ddd, $J_{\text{H2}'\beta,\text{H2}'\alpha}$ = 13.7, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\alpha}$ = 5.6, $J_{\text{H3}',\text{H2}'\alpha}$ = 3.6, 1H, H2'α), 2.43 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.31 (s, 3H, Ar-CH₃). $^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 166.3 (C_q, -COOR), 166.0 (C_q, -COOR), 143.8 (C_q, Tol), 143.7 (C_q, Tol), 140.6 (C_q, C3), 132.1 (C_q), 131.3 (C_q), 130.1 (C_q), 130.1 (C_q), 129.7 (CH, Tol), 129.5 (CH, Tol), 129.1 (CH, Tol), 128.8 (CH, Tol), 128.7, 128.4 (C1, C8), 127.0 (C_q, Tol), 126.8 (C_q, Tol), 126.6, 126.5, 126.4, 124.2, 122.7 (C5), 119.4 (C4), 82.3, 80.6 (C1', C4'), 76.4 (C3'), 64.5 (C5'), 40.5 (C2'), 21.6 (Ar-CH₃), 21.5 (Ar-CH₃). HRMS(ESI): m/z C₃₅H₃₁O₅⁺ ber. 531.2166 (M+H⁺), gef. 531.2172. R_f: 0.34 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

1'',2''-Dideoxy-3'',5''-di-O-toluoyl-1''-(R,S-[1,1']binaphthalen-4-yl)ribofuranose 134n

Die Verbindungen **134naβ** (C₄₁H₃₄O₅, M = 606.71 g·mol⁻¹) wurden entsprechend Vorschrift 4 synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung (Cyclohexan:Ethylacetat =

19:1) wurde das Produkt **134n β** in 95 % Gesamtausbeute (628 mg, 1.03 mmol) erhalten. Die Epimerisierung gemäß Vorschrift 6 mit 6 % TFA/Benzensulfonsäure (5:1) ergab 40 % β -Anomer **134n β** (277 mg, 0.46 mmol) und 40 % α -Anomer **134n α** (274 mg, 0.46 mmol).

β -1'',2''-Didesoxy-3'',5''-di-O-toluoyl-1''-(R,S-[1,1']binaphthalen-4-yl)ribofuranose

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 8.15 – 7.18 (m, 21H), 6.10 (dd, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\alpha}$ = 10.2, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\beta}$ = 4.8, 1H, H1'), 5.76 – 5.72 (m, 1H, H3'), 4.81 – 4.70 (m, 3H, H5', H4'), 2.95 – 2.88 (m, 1H, H2'\alpha), 2.46 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.56 – 2.44 (m, 1H, H2'\beta), 2.40 (s, 1.6H, Ar-CH₃), 2.36 (s, 1.4H, Ar-CH₃). $^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 166.5 (C_q, -COOR), 166.3 (C_q, -COOR), 144.3 (C_q, Tol), 143.9 (C_q, Tol), 143.8 (C_q, Tol), 138.4 (C_q), 136.3 (C_q), 136.3 (C_q), 133.5 (C_q), 133.0 (C_q), 133.0 (C_q), 132.9 (C_q), 132.9 (C_q), 130.5 (C_q), 129.8, 129.8, 129.3, 129.2, 129.2, 128.2, 128.1, 128.0, 127.9, 127.8, 127.7, 127.7, 127.5, 127.1, 127.0, 126.6, 126.6, 126.0, 125.9, 125.9, 125.8, 125.7, 125.4, 125.3, 123.2, 123.1, 122.0, 121.9, 82.7 (C4'), 82.7 (C4'), 78.2 (C1'), 78.0 (C1'), 64.7 (C5'), 40.9 (C2'), 40.8 (C2'), 21.8 (Ar-CH₃), 21.7 (Ar-CH₃), 21.7 (Ar-CH₃). HRMS(EI): m/z C₄₁H₃₄O₅⁺ ber. 606.2406 (M⁺), gef. 606.2403. R_f: 0.44 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

α -1'',2''-Dideoxy-3'',5''-di-O-toluoyl-1''-(R,S-[1,1']binaphthalen-4-yl)ribofuranose

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 8.03 – 7.92 (m, 6H), 7.77 (d, J = 8.0, 1H), 7.73 (d, J = 8.0, 1H), 7.68 – 7.27 (m, 11H), 7.18 (d, J = 7.8, 1H), 7.09 (d, J = 8.0, 1H), 6.23 – 6.17 (m, 1H, H1'), 5.78 – 5.73 (m, 1H, H3'), 4.98 – 4.91 (m, 1H, H4'), 4.77 – 4.64 (m, 2H, H5'), 3.32 – 3.22 (m, 1H, H2'\beta), 2.63 – 2.49 (m, 1H, H2'\alpha), 2.44 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.40 (s, 1.3H, Ar-CH₃), 2.30 (s, 1.7H, Ar-CH₃). $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 166.5 (C_q, -COOR), 166.1 (C_q, -COOR), 166.1 (C_q, -COOR), 144.0 (C_q, Tol), 144.0 (C_q, Tol), 143.9 (C_q, Tol), 138.5 (C_q), 138.2 (C_q), 138.1 (C_q), 137.8 (C_q), 133.5 (C_q), 133.5 (C_q), 133.1 (C_q), 132.9 (C_q), 132.9 (C_q), 130.2, 129.9, 129.8, 129.8, 129.6, 129.2, 129.2, 129.1, 128.2, 128.1, 128.0, 127.9, 127.8, 127.7, 127.6, 127.4, 127.3, 127.1, 126.8, 126.8, 126.6, 126.1, 126.0, 126.0, 125.9, 125.7, 125.6, 125.6, 125.5, 125.3, 123.3, 123.3, 82.8 (C4'), 82.4 (C4'), 78.4 (C1'), 78.1 (C1'), 64.8 (C5'), 64.8 (C5'), 39.9 (C2'), 39.8 (C2'), 21.7 (Ar-CH₃), 21.7 (Ar-CH₃), 21.6 (Ar-CH₃). HRMS(EI): m/z C₄₁H₃₄O₅⁺ ber. 606.2406 (M⁺), gef. 606.2403. R_f: 0.39 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(2-(7-phenyl)naphthyl)ribofuranose 134o

Die Verbindungen **134oαβ** ($C_{37}H_{32}O_5$, $M = 556.65 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) wurden entsprechend Vorschrift 4 synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung (Cyclohexan:Ethylacetat = 19:1) wurde das Produkt **134oβ** in 46 % Ausbeute (197 mg, 0.35 mmol) das Produkt **134oα** in 30 % Ausbeute (129 mg, 0.23 mmol) isoliert. Die Epimerisierung gemäß Vorschrift 6 mit 12 % TFA/Benzensulfonsäure (10:1) ergab 46 % β-Anomer **134oβ** (59 mg, 0.11 mmol) und 12 % α-Anomer **134oα** (15 mg, 0.03 mmol).

*β-1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(2-(7-phenyl)naphthyl)ribofuranose*

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 8.05 - 7.97$ (m, 4H, Tol), $7.94 - 7.83$ (m, 3H, H1, H8, H4' oder H5'), 7.85 (d, $J = 8.4$, 1H, H4' oder H5'), $7.77 - 7.69$ (m, 3H, Ph, H6), $7.54 - 7.48$ (m, 3H, Ph, H3), $7.44 - 7.38$ (m, 1H, Ph), 7.35 (d, $J = 8.1$, 2H, Tol), 7.21 (d, $J = 8.1$, 2H, Tol), 5.71 (d, $J = 6.2$, 1H, H3'), 5.47 (dd, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\alpha} = 10.8$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\beta} = 5.8$, 1H, H1'), $4.84 - 4.67$ (m, 2H, H5'), 4.65 (td, $J_{\text{H4}',\text{H5}'} = 3.6$, $J_{\text{H3}',\text{H4}'} = 1.9$, 1H, H4'), 2.65 (dd, $J_{\text{H2}'\alpha,\text{H2}'\beta} = 13.7$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\alpha} = 5.2$, $J_{\text{H3}',\text{H2}'\alpha} = 0.8$, 1H, H2'α), 2.48 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.37 (s, 3H, Ar-CH₃), $2.44 - 2.34$ (m, 1H, H2'β). $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 166.3$ (C_q, -COOR), 166.1 (C_q, -COOR), 144.0 (C_q, Tol), 143.7 (C_q, Tol), 141.4 (C_q), 141.3 (C_q), 138.1 (C_q), 133.5 (C_q), 132.5 (C_q), 129.6 (CH, Tol), 129.5 (CH, Tol), 129.1 (CH, Tol), 129.0 (CH, Tol), 128.9 , 128.2 , 128.1 , 127.5 , 126.9 , 126.1 , 125.8 , 125.7 , 125.4 , 124.9 , 124.8 , 83.1 (C4'), 80.8 (C1'), 77.3 (C3'), 64.7 (C5'), 42.0 (C2'), 21.6 (Ar-CH₃), 21.4 (Ar-CH₃). HRMS(EI): m/z $C_{37}H_{32}O_5^+$ ber. 556.2250 (M^+), gef. 556.2251. R_f: 0.36 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

*α-1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(2-(7-phenyl)naphthyl)ribofuranose*

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 8.03 - 7.98$ (m, 4H, Tol, H1, H8), 7.93 (d, $J = 8.6$, 1H) und 7.89 (d, $J = 8.50$, 1H, H4, H5), $7.79 - 7.71$ (m, 3H, Ph, H6), 7.64 (d, $J = 8.2$, 2H, Tol), $7.56 - 7.48$ (m, 3H, Ph, H3), $7.44 - 7.38$ (m, 1H, Ph), 7.27 (d, $J = 8.0$, 2H, Tol), 7.03 (d, $J = 8.0$, 2H, Tol), 5.68 (ddd, $J = 6.5$, $J = 3.4$, $J = 3.4$, 1H, H3'), 5.59 (dd, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\alpha} = 7.5$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\beta} = 5.6$, 1H, H1'), 4.81 (td, $J_{\text{H4}',\text{H5}'} = 4.8$, $J_{\text{H3}',\text{H4}'} = 2.8$, 1H, H4'), $4.69 - 4.59$ (m, 2H, H5'), 3.04 (ddd, $J_{\text{H2}'\alpha,\text{H2}'\beta} = 14.2$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\beta} = 7.6$, $J_{\text{H3}',\text{H2}'\beta} = 6.8$, 1H, H2'β), $2.49 - 2.41$ (m, 1H, H2'α), 2.44 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.33 (s, 3H, Ar-CH₃). $^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 166.4$ (C_q, -COOR), 166.1 (C_q, -COOR), 143.9 , 143.9 (C_q, Tol), 141.0 (C_q), 140.4 (C_q), 138.8 (C_q), 133.5 (C_q), 132.0 (C_q), 129.7 (CH, Tol), 129.6 (CH, Tol), 129.2 (CH, Tol), 128.9 (CH,

Tol), 128.8 (CH, Ph), 128.1, 128.0, 127.3, 127.1, 126.7, 125.9, 125.5, 124.6, 123.9, 82.4, 80.5 (C1' und C4'), 76.4 (C3'), 64.6 (C5'), 40.2 (C2'), 21.7 (Ar-CH₃), 21.6 (Ar-CH₃). HRMS(ESI): m/z C₃₇H₃₂O₅⁺ ber. 556.2250 (M⁺), gef. 556.2250. R_f: 0.29 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(2-(7-methyl)naphthyl)ribofuranose **134p**

Die Verbindungen **134paβ** (C₃₂H₃₀O₅, M = 494.21 g·mol⁻¹) wurden entsprechend Vorschrift 4 synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung (Cyclohexan:Ethylacetat = 19:1) wurde das Produkt **134paβ** in 84 % Ausbeute (207 mg, 0.50 mmol) isoliert. Die Epimerisierung gemäß Vorschrift 6 mit 5 % TFA ergab 51 % β-Anomer **134pβ** (66 mg, 0.13 mmol) und 41 % α-Anomer **134pa** (53 mg, 0.10 mmol).

β-1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(2-(7-methyl)naphthyl)ribofuranose

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 8.02 (d, J = 8.1, 2H, Tol), 7.99 (d, J = 8.1, 2H, Tol), 7.79 (s, 1H, H1), 7.77 (d, J = 8.3, 1H, H4), 7.73 (d, J = 8.3, 1H, H5), 7.50 (s, 1H, H8), 7.44 (dd, J = 8.4, J = 1.7, 1H, H3), 7.32 (m, 3H, Tol, H6), 7.22 (d, J = 8.4, 2H, Tol), 5.67 (d, J = 6.1, 1H, H3'), 5.43 (dd, $J_{H1',H2'\alpha}$ = 10.9, $J_{H1',H2'\beta}$ = 5.1, 1H, H1'), 4.84 – 4.80 (m, 2H, H5'), 4.75 – 4.71 (td, $J_{H4',H5'}$ = 3.9, $J_{H3',H4'}$ = 2.0, 1H, H4'), 2.62 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta}$ = 13.8, $J_{H1',H2'\alpha}$ = 5.1, $J_{H3',H2'\alpha}$ = 0.8, 1H, H2'α), 2.51 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.47 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.42 (s, 3H, Ar-CH₃) 2.34 (ddd, $J_{H2'\beta,H2'\alpha}$ = 13.8, $J_{H1',H2'\beta}$ = 10.9, $J_{H3',H2'\beta}$ = 6.1, 1H, H2'β). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 166.4 (C_q, -COOR), 166.1 (C_q, -COOR), 144.1 (C_q, Tol), 143.7 (C_q, Tol), 138.0 (C_q), 135.7 (C_q), 133.4 (C_q), 131.3 (C_q), 129.7 (CH, Tol), 129.1 (CH, Tol), 129.1 (CH, Tol), 128.1, 128.0, 127.4, 127.0 (C_q, Tol), 126.9 (C_q, Tol), 126.9, 124.1, 122.9, 83.0, 81.0 (C1', C4'), 77.4 (C3'), 64.7 (C5'), 41.8 (C2'), 21.7 (Ar-CH₃), 21.7 (Ar-CH₃), 21.6 (Ar-CH₃). HRMS(ESI): m/z C₃₂H₃₀O₅Na⁺ ber. 517.1985 (M+Na⁺), gef. 517.1988. R_f: 0.43 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

α-1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(2-(7-methyl)naphthyl)ribofuranose

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 8.00 (d, J = 8.2, 2H, Tol), 7.82 – 7.73 (m, 3H, H1, H4, H5), 7.64 (d, J = 8.2, 2H, Tol), 7.59 (s, 1H, H8), 7.47 (dd, J = 8.4, J = 1.7, 1H, H3), 7.32 (dd, J = 8.3, J = 1.6, 1H, H6), 7.26 (d, J = 8.0, 2H, Tol), 7.05 (d, J = 7.9, 2H, Tol), 5.69 – 5.64 (m, 1H, H3'), 5.55 (dd, $J_{H1',H2'\beta}$ = 6.7, $J_{H1',H2'\alpha}$ = 6.7, 1H, H1'), 4.78 (td, $J_{H4',H5'}$ = 4.5, $J_{H3',H4'}$ = 3.0, 1H, H4'), 4.63 (m, $J_{H4',H5'}$ = 4.7, 2H, H5'), 3.31 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta}$ = 14.0, $J_{H1',H2'\beta}$ = 7.0, $J_{H3',H2'\beta}$ = 7.0, 1H, H2'β), 2.53 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.44 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.37 (s, 3H, Ar-CH₃). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 166.4 (C_q, -COOR), 166.1 (C_q, -COOR), 143.8 (C_q, Tol), 139.7

(C_q), 135.7 (C_q), 133.4 (C_q), 131.0 (C_q), 129.7 (CH, Tol), 129.6 (CH, Tol), 129.1 (CH, Tol), 128.9 (CH, Tol), 128.0, 127.9, 127.4, 127.0 (C_q, Tol), 126.9, 126.7 (C_q, Tol), 123.7, 122.8, 82.2, 80.4 (C1', C4'), 76.4 (C3'), 64.6 (C5'), 40.2, 21.6 (Ar-CH₃), 21.6 (Ar-CH₃), 21.5 (Ar-CH₃). HRMS(ESI): m/z C₃₂H₃₀O₅Na⁺ ber. 517.1985 (M+Na⁺), gef. 517.1988. R_f: 0.36 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(2-anthracenyl)ribofuranose **134q**

Die Verbindungen **134qaβ** (C₃₅H₃₀O₅, M = 530.21 g·mol⁻¹) wurden entsprechend Vorschrift 5 synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung (Cyclohexan:Ethylacetat = 19:1) wurde das Produkt **134qaβ** in 47 % Ausbeute (433 mg, 0.82 mmol) isoliert. Die Epimerisierung gemäß Vorschrift 6 mit 4 % TFA ergab 28 % β-Anomer **134qb** (161 mg, 0.30 mmol) und 49 % α-Anomer **134qa** und Mischfraktionen (283 mg, 0.53 mmol). Die Epimerisierung gemäß Vorschrift 6 mit 5 % TFA ergab 44 % β-Anomer **134qb** (124 mg, 0.23 mmol) und 17 % α-Anomer **134qa** (49 mg, 0.09 mmol).

β-1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(2-anthracenyl)ribofuranose

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 8.39 (s, 1H) und 8.30 (s, 1H, H9, H10), 8.04-7.95 (m, 8H, H1, H4, H5, H8), 7.49 - 7.44 (m, 3H, H3, H6, H7), 7.30 (d, J = 8.0, 2H, Tol), 7.19 (d, J = 8.0, 2H, Tol), 5.69 (d, J = 6.2, 1H, H3'), 5.46 (dd, $J_{H1',H2'\alpha}$ = 10.7, $J_{H1',H2'\beta}$ = 5.2, 1H, H1'), 4.80 - 4.63 (m, 2H, H5'), 4.63 (td, $J_{H4',H5'}$ = 3.9, $J_{H3',H4'}$ = 2.1, 1H, H4'), 2.64 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta}$ = 13.7, $J_{H1',H2'\alpha}$ = 5.2, $J_{H3',H2'\alpha}$ = 0.8, 1H, H2'α), 2.45 (s, 3H), 2.37 (s, 3H), 2.43-2.35 (m, 1H, H2'β). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 166.5 (C_q, -COOR), 166.2 (C_q, -COOR), 144.2 (C_q, Tol), 143.8 (C_q, Tol), 137.5 (C_q, C2), 131.9 (C_q), 131.8 (C_q), 131.4 (C_q), 129.8 (CH, Tol), 129.8 (CH, Tol), 129.3 (CH, Tol), 129.2 (CH, Tol), 128.8, 128.2 und 128.1 (C4, C5, C8), 127.1 (C_q, Tol), 127.0 (C_q, Tol), 126.4 und 126.1 (C9, C10), 125.4 und 125.4 (C6, C7), 124.8 und 123.6 (C1, C3), 83.2, 81.1 (C1', C4'), 77.3 (C3'), 64.8 (C5'), 41.5 (C2'), 21.8 (Ar-CH₃), 21.7 (Ar-CH₃). HRMS(EI): m/z C₃₅H₃₀O₅⁺ ber. 530.2093 (M⁺), gef. 530.2093. R_f: 0.34 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

α-1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(2-anthracenyl)ribofuranose

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 8.48 (s, 2H, H9, H10), 8.07 (d, J = 8.1, 2H, Tol), 8.03 - 7.97 (m, 3H, H1, H5, H8), 7.79 (d, J = 6.9, 1H, H4), 7.70 (d, J = 8.1, 2H, Tol), 7.52 - 7.47 (m, 3H, H3, H6, H7), 7.30 (d, J = 8.0, 2H, Tol), 7.16 (d, J = 8.0, 2H, Tol), 6.23 (dd, $J_{H1',H2'\alpha}$ =

7.3, $J_{H1',H2'\beta} = 6.1$, 1H, H1'), 5.75 (ddd, $J = 6.6, 3.4, 3.4$, 1H, H3'), 4.92 (td, $J_{H4',H5'} = 4.7$, $J_{H3',H4'} = 2.9$, 1H, H4'), 4.79 – 4.69 (m, 2H, H5'), 3.32 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta} = 14.4$, $J_{H1',H2'\beta} = 7.3$, $J_{H3',H2'\beta} = 7.3$, 1H, H2'β), 2.53 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta} = 13.6$, $J_{H1',H2'\alpha} = 5.6$, $J_{H3',H2'\alpha} = 3.6$, 1H, H2'α), 2.46 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.39 (s, 3H, Ar-CH₃). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 166.4 (C_q, -COOR), 166.0 (C_q, -COOR), 143.8 (C_q, Tol), 137.7 (C_q, C2), 131.9 (C_q), 131.4 (C_q), 131.1 (C_q), 129.7 (CH, Tol), 129.6 (CH, Tol), 129.1 (CH, Tol), 129.0 (CH, Tol), 128.9 (C_q), 128.5, 128.4, 128.1, 127.8, 127.1, 127.1 (C_q, Tol), 126.7 (C_q, Tol), 125.5, 125.5, 124.7, 121.8, 121.6, 82.3 (C4'), 78.1 (C1'), 76.4 (C3'), 64.6 (C5'), 39.5 (C2'), 21.6 (Ar-CH₃), 21.5 (Ar-CH₃). HRMS(EI): m/z C₃₅H₃₀O₅⁺ ber. 530.2093 (M⁺), gef. 530.2093. R_f: 0.29 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-triisopropylsilyloxyphenyl)ribofuranose **134r**

Die Verbindungen **134ra** (C₃₆H₄₆O₆Si, M = 602.83 g·mol⁻¹) wurden entsprechend Vorschrift 4 synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung (Cyclohexan:Ethylacetat = 19:1) wurde das Produkt **134ra** in 84 % Ausbeute (207 mg, 0.50 mmol) isoliert.

β-1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-triisopropylsilyloxyphenyl)ribofuranose

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 8.00 (d, $J = 8.2$, 2H, Tol), 7.95 (d, $J = 8.2$, 2H, Tol), 7.28 (d, $J = 8.0$, 2H, Tol), 7.22 (d, $J = 8.0$, 2H, Tol), 7.17 (t, $J = 7.6$, 1H, H5), 7.00 – 6.95 (m, 2H, H2, H4), 6.81 (ddd, $J = 8.1, J = 2.4, J = 1.0$, 1H, H6), 5.63 – 5.60 (m, 1H, H3'), 5.23 (dd, $J_{H1',H2'\beta} = 10.9$, $J_{H1',H2'\alpha} = 5.0$, 1H, H1'), 4.64 (d, $J_{H4',H5'} = 4.2$, 2H, H5'), 4.56 (td, $J_{H4',H5'} = 4.2$, $J_{H3',H4'} = 1.9$, 1H, H4'), 2.58 – 2.51 (m, 1H, H2'α), 2.44 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.40 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.24 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta} = 13.8$, $J_{H1',H2'\beta} = 11.0$, $J_{H3',H2'\beta} = 6.0$, 1H, H2'β), 1.28 – 1.15 (m, 3H, -CH(CH₃)₂), 1.11 – 1.06 (m, 18H, -CH(CH₃)₂). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 166.3 (C_q, -COOR), 166.1 (C_q, -COOR), 156.1 (C_q, C1), 144.0 (C_q, Tol), 143.7 (C_q, Tol), 142.2 (C_q, C3), 129.6 (CH, Tol), 129.6 (CH, Tol), 129.3 (C5), 129.1 (CH, Tol), 129.0 (CH, Tol), 126.9 (C_q, Tol), 126.9 (C_q, Tol), 119.1, 118.3 und 117.2 (C2, C4, C6), 82.8, 80.5 (C1', C4'), 77.1 (C3'), 64.8 (C5'), 41.6 (C2'), 21.6 (Ar-CH₃), 21.6 (Ar-CH₃), 17.8 (CH₃, *i*Pr), 12.5 (CH, *i*Pr). HRMS(EI): m/z C₄₆H₃₆SiO₅⁺ ber. 602.3065 (M⁺), gef. 602.3067. R_f: 0.46 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

α -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-O-toluoyl-1'-(3-triisopropylsilyloxyphenyl)ribofuranose

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 8.00 (d, J = 8.2, 2H, Tol), 7.74 (d, J = 8.2, 2H, Tol), 7.28 – 7.23 (m, 3H, Tol, H5), 7.19 (d, J = 8.3, 2H, Tol), 7.04–6.96 (m, 2H, H2, H4), 6.82 (m, 1H, H6), 5.59 – 5.64 (m, 1H, H3'), 5.36 (dd, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\beta}$ = 7.2, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\alpha}$ = 5.9, 1H, H1'), 4.73 – 4.69 (m, 1H, H4'), 4.62 (d, $J_{\text{H4}',\text{H5}'}$ = 4.7, 2H, H5'), 2.96 (ddd, $J_{\text{H2}'\alpha,\text{H2}'\beta}$ = 14.1, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\beta}$ = 7.2, $J_{\text{H3}',\text{H2}'\beta}$ = 7.2, 1H, H2'β), 2.44 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.41 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.34 (ddd, $J_{\text{H2}'\alpha,\text{H2}'\beta}$ = 13.6, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\alpha}$ = 5.7, $J_{\text{H3}',\text{H2}'\alpha}$ = 3.9, 1H, H2'α), 1.32 – 1.20 (m, 3H, -CH(CH₃)₂), 1.13 – 1.09 (m, 18H, -CH(CH₃)₂). $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 166.3 (C_q, -COOR), 166.1 (C_q, -COOR), 156.1 (C_q, C1), 143.9, 143.8 und 143.7 (C_q, Tol, C3), 129.6 (CH, Tol), 129.6 (CH, Tol), 129.2 (C5), 129.0 (CH, Tol), 128.9 (CH, Tol), 127.0 (C_q, Tol), 126.7 (C_q, Tol), 118.5, 118.0 und 117.0 (C2, C4, C6), 82.0, 79.9 (C1', C4'), 76.3 (C3'), 64.6 (C5'), 40.3 (C2'), 21.6 (Ar-CH₃), 21.6 (Ar-CH₃), 17.8 (CH₃, *i*Pr), 12.5 (CH, *i*Pr). HRMS(EI): m/z C₄₆H₃₆SiO₅⁺ ber. 602.3065 (M⁺), gef. 602.3065. R_f: 0.41 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

 α,β -2-Desoxy-3,5-di-O-toluoyl-1-O-acetyl-ribofuranose **145**^[156,177]

Zu dem in Eisessig gelösten Methoxyzucker **133** (1.09 g, 2.84 mmol) wurde Essigsäureanhydrid (10 ml) gegeben. Nach Abkühlen auf 0°C wurde langsam conc. H₂SO₄ (0.25 ml) zugetropft und es unter Erwärmen auf Raumtemperatur für 5 Minuten gerührt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung auf Eis (50 g) gegeben und 3x mit CH₂Cl₂ (je 30 ml) extrahiert. Die gesammelten organischen Phasen wurden 3x mit gesättigter NaHCO₃-Lösung (je 20 ml) und mit gesättigter NaCl-Lösung (20 ml) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Flash-Chromatographie (Cyclohexan:Ethylacetat = 9:1) ergab 459 mg (1.11 mmol, 39 %) von **145** (C₂₃H₂₄O₇, M = 412.15 g·mol⁻¹) als farbloses Öl.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 7.99 – 7.89 (m, 4H, Tol), 7.28 – 7.20 (m, 4H, Tol), 6.51 – 6.48 (m, 1H, H1'), 5.65 (ddd, J = 7.0, J = 5.2, J = 3.3, 0.3H, H3'), 5.52 (ddd, J = 7.0, J = 2.3, J = 1.2, 0.7H, H3'), 4.74 – 4.45 (m, 3H, H4', H5'), 2.72 – 2.35 (m, 8H, H2', Ar-CH₃), 2.10 (s, 3H, OAc), 1.94 (s, 3H, OAc). $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 170.2 (C_q, OAc), 170.1 (C_q, OAc), 166.1 (C_q, -COOR), 144.2 (C_q), 144.2 (C_q), 143.9 (C_q), 143.8 (C_q), 129.7, 129.7, 129.6, 129.6, 129.1, 129.0, 126.8 (C_q, Tol), 126.8 (C_q, Tol), 98.5 (C1'), 98.2 (C1'), 83.8 (C4'), 82.9 (C4'), 74.4 (C3'), 74.2 (C3'), 64.2 (C5'), 64.0 (C5'), 38.6 (C2'), 38.4 (C2'), 21.6 (Ar-CH₃), 21.6 (Ar-CH₃), 21.2 (OAc), 21.1 (OAc). MS(ESI): m/z C₂₃H₂₄O₅Na⁺ ber. 435.1 (M+Na⁺), gef. 435.1. R_f: 0.17 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

β -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(2-naphthyl)ribofuranose 134s

Die Verbindungen **134sa β** ($C_{31}H_{28}O_5$, $M = 480.19 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) wurden entsprechend Vorschrift 4 synthetisiert. Anstelle des Chlorozuckers **34** wurde α,β -2-Desoxy-3,5-di-*O*-toluoyl-1-*O*-acetyl-ribofuranose **145**, gelöst in THF eingesetzt. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung (Cyclohexan:Ethylacetat = 19:1) wurde das Produkt **134sa β** ($\alpha:\beta = 3:1$) in 65 % Ausbeute (134 mg, 0.26 mmol) isoliert. Die Epimerisierung gemäß Vorschrift 6 mit 5 % TFA ergab 45 % β -Anomer **134s β** (430 mg, 0.90 mmol) und 30 % Mischfraktionen (285 mg, 0.59 mmol).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 8.03$ (d, $J = 8.2$, 2H, Tol), 7.98 (d, $J = 8.2$, 2H, Tol), 7.89 (s, 1H, H1), $7.85 - 7.75$ (m, 3H, H4, H5, H8), $7.55 - 7.45$ (m, 3H, H3, H6, H7), 7.31 (d, $J = 8.0$, 2H, Tol), 7.21 (d, $J = 8.0$, 2H, Tol), $5.70 - 5.65$ (m, 1H, H3'), 5.45 (dd, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\alpha} = 10.9$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\beta} = 5.0$, 1H, H1'), $4.79 - 4.68$ (m, 2H, H5'), $4.65 - 4.60$ (m, 1H, H4'), 2.63 (dd, $J_{\text{H2}'\alpha,\text{H2}'\beta} = 13.8$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\alpha} = 5.3$, 1H, H2' α), 2.46 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.40 (s, 3H, Ar-CH₃), $2.40 - 2.30$ (m, 1H, H2' β). $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 166.3$ (C_q, -COOR), 166.1 (C_q, -COOR), 144.1 (C_q, Tol), 143.7 (C_q, Tol), 138.0 (C_q, C2), 133.1 (C_q), 133.0 (C_q), 129.7 (CH, Tol), 129.6 (CH, Tol), 129.1 (CH, Tol), 129.1 (CH, Tol), 128.2 , 127.8 , 127.6 , 127.0 (C_q, Tol), 126.9 (C_q, Tol), 126.0 , 125.8 , 124.7 , 123.7 , 83.0 , 80.9 (C1', C4'), 77.2 (C3'), 64.7 (C5'), 41.8 (C2'), 21.6 (Ar-CH₃), 21.6 (Ar-CH₃). MS(ESI): m/z $C_{31}H_{28}O_5\text{Na}^+$ ber. 503.2 (M+Na⁺), gef. 503.2. R_f: 0.38 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-tolyloxy)ribofuranose 142a

Die Synthese von **142a** ($C_{28}H_{28}O_6$, $M = 460.19 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) wird in Vorschrift 7 beschrieben.

 *β -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-tolyloxy)ribofuranose*

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 7.98 - 7.91$ (m, 4H, Tol), 7.27 (d, $J = 8.0$, 2H, Tol), $7.22 - 7.13$ (m, 3H, Tol, H5), $6.88 - 6.80$ (m, 3H, H2, H6, H4), 6.02 (dd, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\alpha} = 5.6$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\beta} = 2.7$, 1H, H1'), 5.75 (ddd, $J_{\text{H2}',\text{H3}'} = 7.2$, $J_{\text{H2}',\text{H3}'} = 4.5$, $J_{\text{H4}',\text{H3}'} = 2.9$, 1H, H3'), 4.65 (td, $J_{\text{H5}',\text{H4}'} = 5.5$, $J_{\text{H3}',\text{H4}'} = 2.9$, 1H, H4'), $4.56 - 4.43$ (m, 2H, H5'), 2.87 (ddd, $J_{\text{H2}'\alpha,\text{H2}'\beta} = 14.0$, $J_{\text{H3}',\text{H2}'\beta} = 7.0$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\beta} = 2.7$, 1H, H2' β), 2.58 (ddd, $J_{\text{H2}'\beta,\text{H2}'\alpha} = 14.4$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\alpha} = 5.6$, $J_{\text{H3}',\text{H2}'\alpha} = 4.6$, 1H, H2' α), 2.45 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.42 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.32 (s, 3H, Ar-CH₃). $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 166.2$ (C_q, -COOR), 166.0 (C_q, -COOR), 156.8 (C_q, C1), 144.1 (C_q, Tol), 143.6 (C_q, Tol), 139.4 (C_q, C3), 129.8 (CH, Tol), 129.7 (CH, Tol), 129.1

(CH, Tol), 129.1 (C5), 128.9 (CH, Tol), 127.1 (C_q, Tol), 126.8 (C_q, Tol), 122.8 (C4), 117.3 (C2), 113.5 (C6), 102.7 (C1'), 82.5 (C4'), 75.3 (C3'), 64.6 (C5'), 39.5 (C2'), 21.7 (Ar-CH₃), 21.6 (Ar-CH₃), 21.4 (Ar-CH₃). HRMS(ESI): m/z C₂₈H₂₈O₆Na⁺ ber. 483.1778 (M+Na⁺), gef. 483.1778. R_f: 0.48 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

α-1',2'-Dideoxy-3',5'-di-O-toluoyl-1'-(3-biphenyl)ribofuranose

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 7.98 (d, J = 8.1, 2H, Tol), 7.91 (d, J = 8.0, 2H, Tol), 7.25 (d, J = 8.1, 2H, Tol), 7.22 (d, J = 8.1, 2H, Tol), 7.16 (dd, J = 7.8, J = 7.8, 1H, H5), 6.83 (s, 1H, H2), 5.97 (d, J = 4.5, 1H, H1'), 5.56 – 5.53 (m, 1H, H3'), 4.68 (td, $J_{H5',H4'} = 3.5$, $J_{H3',H4'} = 3.5$, 1H, H4'), 4.60 (dd, $J_{gem.} = 11.9$, $J_{H4',H5'} = 3.5$, 1H, H5'), 4.54 (td, $J_{gem.} = 11.9$, $J_{H4',H5'} = 4.0$, 1H, H5'), 2.67 (ddd, $J_{H2',H2'β} = 14.4$, $J_{H1',H2'β} = 7.5$, $J_{H3',H2'β} = 5.3$, 1H, H2'β), 2.50 (ddd, $J_{H2'β,H2'α} = 14.1$, $J = 0.9$, 1H, H2'α), 2.41 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.40 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.32 (s, 3H, Ar-CH₃). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 165.5 (C_q, -COOR), 156.6 (C_q, OAr), 139.8 (C_q), 139.7, 139.6 (C_q), 131.1, 131.0, 129.3, 129.2, 129.1, 128.8, 128.5, 128.0, 122.9 (C4), 117.1 (C2), 113.5 (C6), 102.0 (C1'), 82.1 (C4'), 74.9 (C3'), 64.4 (C5'), 39.3 (C2'), 21.4 (Ar-CH₃). HRMS(ESI): m/z C₂₈H₂₈O₆Na⁺ ber. 483.1778 (M+Na⁺), gef. 483.1778. R_f: 0.38 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

1',2'-Dideoxy-3',5'-di-O-toluoyl-1'-(2-anthracenyloxy)ribofuranose 142b

Die Verbindungen **142baβ** (C₃₅H₃₀O₆, M = 546.61 g·mol⁻¹) wurden entsprechend Vorschrift 7 synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung (Cyclo-hexan: Ethylacetat = 19:1) wurde das β-Anomer **142bβ** in 16 % Ausbeute (22 mg, 0.04 mmol) und das α-Anomer **142bα** in 64 % Ausbeute (86 mg, 0.16 mmol) isoliert.

β-1',2'-Dideoxy-3',5'-di-O-toluoyl-1'-(2-anthracenyloxy)ribofuranose

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 8.34 (s, 1H, H10), 8.28 (s, 1H, H9), 8.01 – 7.82 (m, 7H, Tol, H4, H5, H8), 7.58 (d, J = 2.3, 1H, H1), 7.49 – 7.41 (m, 2H, H6, H7), 7.29 (d, J = 7.9, 2H, Tol), 7.15 (dd, J = 9.1, J = 2.4, 1H, H3), 7.06 (d, J = 7.9, 2H, Tol), 6.24 (dd, $J_{H1',H2'α} = 5.6$, $J_{H1',H2'β} = 2.5$, 1H, H1'), 5.69 (ddd, $J_{H3',H2'β} = 7.2$, $J_{H3',H2'α} = 4.5$, $J_{H3',H4'} = 3.0$, 1H, H3'), 4.75 (td, $J_{H4',H5'} = 5.6$, $J_{H3',H4'} = 3.0$, 1H, H4'), 4.67 – 4.50 (m, 2H, H5'), 2.98 (ddd, $J_{H2'α,H2'β} = 14.4$, $J_{H3',H2'β} = 7.1$, $J_{H1',H2'β} = 2.5$, 1H, H2'β), 2.43 – 2.35 (ddd, $J_{H2'β,H2'α} = 14.4$, $J_{H3',H2'α} = 5.6$, $J_{H1',H2'α} = 4.7$, 1H, H2'α), 2.46 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.32 (s, 3H, Ar-CH₃). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 166.2 (C_q, -COOR), 166.2 (C_q, -COOR), 154.1 (C_q, C2), 144.2

(C_q, Tol), 143.6 (C_q, Tol), 132.4 (C_q), 132.1 (C_q), 130.6 (C_q), 129.8 (CH, Tol), 129.7 (CH, Tol), 129.2 (CH, Tol), 128.9 (CH, Tol), 128.6, 128.2, 127.7, 126.9 (C_q, Tol), 126.8 (C_q, Tol), 126.0, 125.5, 124.8, 124.6, 120.5 (C3), 108.7 (C1) 102.7 (C1'), 82.7 (C4'), 75.3 (C3'), 64.5 (C5'), 39.6 (C2'), 21.7 (Ar-CH₃), 21.6 (Ar-CH₃). HRMS(ESI): m/z C₃₅H₃₀O₆Na⁺ ber. 569.1935 (M+Na⁺), gef. 569.1935. R_f: 0.41 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

α-1',2'-Dideoxy-3',5'-di-O-toluoyl-1'-(2-anthracenyloxy)ribofuranose

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 8.38 (s, 1H, H10), 8.33 (s, 1H, H9), 8.06 (d, J = 8.2, 2H, Tol), 8.01 – 7.93 (m, 5H, Tol, H4, H5, H8), 7.60 (d, J = 2.3, 1H, H1), 7.50 – 7.40 (m, 2H, H6, H7), 7.33 – 7.22 (m, 5H, Tol, H3), 6.22 (d, $J_{H1',H2'\beta}$ = 4.7, 1H, H1'), 5.65 (m, 1H, H3'), 4.80 (td, 1H, $J_{H4',H5'}$ = 6.9, $J_{H3',H4'}$ = 3.6, H4'), 4.73 – 4.61 (m, 2H, H5'), 2.81 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta}$ = 14.4, $J_{H3',H2'\beta}$ = 7.4, $J_{H1',H2'\beta}$ = 5.2, 1H, H2'β), 2.67 (d, $J_{H2'\alpha,H2'\beta}$ = 14.7, 1H, H2'α), 2.47 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.44 (s, 3H, Ar-CH₃). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 166.5 (C_q, -COOR), 166.3 (C_q, -COOR), 154.1 (C_q, C2), 144.1 (C_q, Tol), 144.0 (C_q, Tol), 132.5 (C_q), 132.1 (C_q), 130.6 (C_q), 129.9 (C_q), 129.9 (CH, Tol), 129.7 (CH, Tol), 129.2 (CH, Tol), 128.6, 128.2, 127.7, 127.0 (C_q, Tol), 126.1, 125.5, 124.8, 124.8, 124.6, 120.7 (C3), 108.3 (C1), 102.2 (C1'), 82.7 (C4'), 74.6 (C3'), 64.3 (C5'), 39.6 (C2'), 21.7 (Ar-CH₃), 21.7 (Ar-CH₃). HRMS(ESI): m/z C₃₅H₃₀O₆Na⁺ ber. 569.1935 (M+Na⁺), gef. 569.1934. R_f: 0.36 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

Weitere Toluylester

β-1'-Phenyloxo-2'-desoxy-3',5'-di-O-toluoyl-ribofuranose **142c**

Unter Argon wurden zu in 20 ml trockenem DMF gelösten, auf 0°C abgekühlten Phenol (94.1 mg, 1.00 mmol) unter Rühren 41 mg NaH (60%; 1.03 mmol) zugegeben. Nach 30 Minuten wurden 398 mg Chlorozucker **34** hinzugefügt und es wurde über Nacht unter Erwärmen auf Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter reduziertem Druck entfernt und das Rohprodukt mittels Flash-Chromatographie (Cyclohexan:Ethylacetat 19:1) gereinigt. Ausbeute: 205 mg (0.46 mmol, 46 %) des reinen β-Anomers **142cβ** (C₂₇H₂₆O₆, M = 446.49 g·mol⁻¹) als farbloser Feststoff, sowie 64 mg (0.14 mmol, 14 %) mit dem α-Anomer **142cα** kontaminiertes Produkt **142cβ**.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 7.92 (d, J = 8.2, 2H, Tol), 7.88 (d, J = 8.2, 2H, Tol), 7.27-7.22 (m, 4H, Tol, H3), 7.16 (d, J = 8.0, 2H, Tol), 7.04 – 7.00 (m, 2H, H2), 6.97 (t, J = 7.3, 1H, H4), 5.99 (dd, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\alpha}$ = 5.6, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\beta}$ = 2.6, 1H, H1'), 5.71 (ddd, $J_{\text{H3}',\text{H2}'\beta}$ = 7.2, $J_{\text{H3}',\text{H2}'\alpha}$ = 4.5, $J_{\text{H3}',\text{H4}'}$ = 3.1, 1H, H3'), 4.62 (td, $J_{\text{H4}',\text{H5}'}$ = 5.5, $J_{\text{H3}',\text{H4}'}$ = 3.0, 1H, H4'), 4.54 (dd, $J_{\text{gem.}}$ = 11.6, $J_{\text{H4}',\text{H5}'}$ = 5.7, 1H, H5'), 4.46 (dd, $J_{\text{gem.}}$ = 11.6, $J_{\text{H4}',\text{H5}'}$ = 5.5, 1H, H5'), 2.85 (ddd, $J_{\text{H2}'\alpha,\text{H2}'\beta}$ = 14.4, $J_{\text{H3}',\text{H2}'\beta}$ = 7.0, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\beta}$ = 2.6, 1H, H2'β), 2.55 (ddd, $J_{\text{H2}'\alpha,\text{H2}'\beta}$ = 14.4, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\alpha}$ = 5.5, $J_{\text{H3}',\text{H2}'\alpha}$ = 4.7, 1H, H2'α), 2.40 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.37 (s, 3H, Ar-CH₃). $^{13}\text{C-NMR}$: (100.1 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 166.2 (C_q, -COOR), 166.0 (C_q, -COOR), 156.8 (C_q, C1), 144.1 (C_q, Tol), 143.6 (C_q, Tol), 129.7 (CH, Tol), 129.7 (CH, Tol), 129.3, 129.1, 128.9, 127.0 (C_q, Tol), 126.7 (C_q, Tol), 122.0 (C4), 116.5 (C2), 102.7 (C1'), 82.4 (C4'), 75.3 (C3'), 64.5 (C5'), 39.4 (C2'), 21.6 (Ar-CH₃), 21.6 (Ar-CH₃). MS(ESI): m/z $\text{C}_{27}\text{H}_{26}\text{O}_6\text{Na}^+$ ber. 469.2 (M+Na⁺), gef. 469.2. Schmelzpunkt: 88-90°C. R_f: 0.44 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4:1).

β-1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(1-indolyl)ribofuranose 134t^[58]

Entsprechend der Vorschrift von Kool *et al.* wurden unter Argon zu in trockenem Acetonitril (20 ml) gelöst, auf 0°C abgekühlten Indol (62.7 mg, 0.54 mmol) unter Rühren NaH (60%; 41 mg, 1.03 mmol) zugegeben. Nach 30 Minuten wurde Chlorozucker **34** (250 mg, 0.64 mmol) zugegeben und es wurde über Nacht unter Erwärmen auf Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter reduziertem Druck entfernt und das Rohprodukt mittels Flash-Chromatographie (Cyclohexan:Ethylacetat 19:1) gereinigt. Ausbeute: 178 mg (0.38 mmol, 71 %) des reinen β-Anomers **134tβ** ($\text{C}_{29}\text{H}_{27}\text{NO}_5$, $M = 469.53 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) als farbloser Schaum.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 8.04 (d, J = 8.2, 2H, Tol), 8.00 (d, J = 8.2, 2H, Tol), 7.67 - 7.64 (m, 1H, Indol), 7.60 – 7.56 (m, 1H, Indol), 7.35 – 7.26 (m, 5H, Ar), 7.24 – 7.14 (m, 2H, Indol), 6.60 (d, J = 3.3, 1H, Indol), 6.53 (dd, $J_{\text{H1}',\text{H2}'}$ = 8.3, $J_{\text{H1}',\text{H2}'}$ = 6.5, 1H, H1'), 5.77 (ddd, $J_{\text{H3}',\text{H2}'\beta}$ = 6.4, $J_{\text{H3}',\text{H2}'\alpha}$ = 2.3, $J_{\text{H3}',\text{H4}'}$ = 2.3, 1H, H3'), 4.69 (d, $J_{\text{H4}',\text{H5}'}$ = 4.0, 2H, H5'), 4.63 - 4.59 (m, 1H, H4'), 2.92 (ddd, $J_{\text{H2}'\alpha,\text{H2}'\beta}$ = 14.2, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\beta}$ = 8.6, $J_{\text{H3}',\text{H2}'\beta}$ = 6.6, 1H, H2'β), 2.69 (ddd, $J_{\text{H2}'\beta,\text{H2}'\alpha}$ = 14.1, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\alpha}$ = 5.5, $J_{\text{H3}',\text{H2}'\alpha}$ = 2.2, 1H, H2'α), 2.49 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.46 (s, 3H, Ar-CH₃). $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 166.2 (C_q, -COOR), 165.9 (C_q, -COOR), 144.3 (C_q, Tol), 143.9 (C_q, Tol), 135.8 (C_q, C7a), 129.7 (CH, Tol), 129.6 (CH, Tol), 129.2 (CH, Tol), 129.1 (CH, Tol), 126.8 (C_q, Tol), 126.5 (C_q, Tol), 123.8 (CH, Indol), 122.0 (CH, Indol), 121.0 (CH, Indol), 120.2 (CH, Indol), 109.8 (C7), 103.5 (C3), 85.5,

81.5, 75.0 (C3'), 64.2 (C5'), 37.7 (C2'), 21.6 (Ar-CH₃), 21.6 (Ar-CH₃). MS(ESI): m/z C₂₉H₂₇O₅Na⁺ ber. 492.2 (M+Na⁺), gef. 492.2. R_f: 0.36 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

Nukleoside

Vorschrift 8 (Entschützung der Toluylester): Zu dem in trockenem Methanol (10 ml) gelösten Bistoluylester **134u** (500 mg, 0.987 mmol) wurde Natriummethylat (128 mg, 2.37 mmol, 3 Äq.) zugegeben. Nach 4 h wurde das Reaktionsgemisch eingengt und das Rohprodukt mittels Flash-Chromatographie über Kieselgel (CH₂Cl₂→CH₂Cl₂:Methanol = 97:3) gereinigt. Ausbeute: 267 mg (90 %) eines weißen Feststoffes **102**.

β-1',2'-Didesoxy-1'-(1-pyrenyl)ribofuranose **81**

Das Nukleosid **81** (C₂₁H₁₈O₃, M = 318.37 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 8 aus **134a** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Feststoff in 91 % Ausbeute isoliert.

¹H-NMR (300 MHz, Methanol-d₄, 25°C): δ = 8.32 – 8.29 (m, 2H, Ar), 8.18 – 8.15 (m, 3H, Ar), 8.09 (d, J = 9.4, 2H, Ar), 8.02 (s, 2H, Ar), 7.97 (dd, J = 8.1, J = 7.2, 1H, H7), 6.18 (dd, $J_{H1',H2'} = 10.5$, $J_{H1',H2'} = 5.5$, 1H, H1'), 4.47 – 4.42 (m, 1H, H3'), 4.15 (td, 1H, $J_{H4',H5'} = 5.1$, $J_{H3',H4'} = 2.7$, H4'), 3.88 – 3.77 (m, 2H, H5'), 2.55 (ddd, $J_{H2',H3'} = 13.2$, $J_{H1',H2'} = 5.5$, $J_{H3',H2'} = 1.8$, 1H, H2'α), 2.09 (ddd, $J_{H2',H3'} = 13.2$, $J_{H1',H2'} = 10.5$, $J_{H3',H2'} = 6.1$, 1H, H2'β). ¹³C-NMR (75.5 MHz, Methanol-d₄, 25°C): δ = 136.7 (C_q), 132.7 (C_q), 132.1 (C_q), 132.0 (C_q), 128.8 (C_q), 128.6, 128.5, 128.1, 127.0, 126.2, 126.1, 126.0 (C_q), 125.8 (C_q), 124.0, 123.5, 89.1, 78.4, 74.5 (C3'), 64.1 (C5'), 44.7 (C2'). MS(ESI): m/z C₂₁H₁₈O₃Na⁺ ber. 341.1 (M⁺), gef. 341.1. Schmelzpunkt: 175 – 177°C. R_f: 0.40 (Ethylacetat).

β-1',2'-Didesoxy-1'-(4-triisopropylsilyloxyphenyl)ribofuranose **101**

Das Nukleosid **101** (C₂₀H₃₄O₄Si, M = 366.57 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 8 synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Feststoff in 79 % Ausbeute (95 mg, 0.26 mmol) isoliert.

¹H-NMR (300 MHz, MeOH-d₄, 25°C): δ = 7.28 (t, J = 8.4, 2H, H3), 6.86 (d, J = 8.6, 2H, H2), 5.08 (dd, $J_{H1',H2'} = 10.6$, $J_{H1',H2'} = 5.3$, 1H, H1'), 4.33 (ddd, $J_{H3',H2'} = 5.9$, $J_{H3',H2'} = 1.7$, $J_{H3',H4'} = 1.7$, 1H, H3'), 3.94 (td, $J_{H4',H5'} = 5.1$, $J_{H3',H4'} = 2.4$, 1H, H4'), 3.72 – 3.62 (m, 2H, H5'), 2.16

(ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta} = 13.1$, $J_{H1',H2'} = 5.3$, $J_{H3',H2'} = 1.6$, 1H, H2' α), 1.97 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta} = 13.2$, $J_{H1',H2'} = 10.6$, $J_{H3',H2'} = 5.9$, 1H, H2' β), 1.34-1.21 (m, 3H, -CH(CH₃)₂), 1.12 (d, $J = 6.8$, 18H, -CH(CH₃)₂). ¹³C-NMR (75.5 MHz, MeOH-d₄, 25°C): $\delta = 156.9$ (C_q, C1), 135.5 (C_q, C4), 128.6 (C3), 120.6 (C2), 89.0 (C4'), 81.4 (C1'), 74.4 (C3'), 64.0 (C5'), 44.7 (C2'), 18.4 (CH₃, *i*Pr), 13.9 (CH, *i*Pr). HRMS(ESI): m/z C₂₀H₃₃Osi⁻ ber. 365.2154 (M-H⁺), gef. 365.2146. Schmelzpunkt: 44 – 45°C. R_f: 0.34 (Ethylacetat). $\epsilon_{260\text{ nm}} = 680\text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$.

α -1',2'-Dideoxy-1'-(4-triisopropylsilyloxyphenyl)ribofuranose 102

Das Nukleosid **102** (C₂₀H₃₄O₄Si, M = 366.57 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 8 aus **134bß** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Feststoff in 73 % Ausbeute (152 mg, 0.41 mmol) isoliert.

¹H-NMR (300 MHz, MeOH-d₄, 25°C): $\delta = 7.25$ (t, $J = 8.5$, 2H, H3), 6.81 (d, $J = 8.6$, 2H, H2), 4.94 (dd, $J_{H1',H2'} = 9.4$, $J_{H1',H2'} = 6.2$, 1H, H1'), 4.36 – 4.29 (m, 1H, H3'), 3.92 (td, $J_{H4',H5'} = 5.6$, $J_{H3',H4'} = 3.6$, 1H, H4'), 3.70 (dd, $J_{\text{gem.}} = 11.8$, $J_{H4',H5'} = 3.5$, 1H, H5'), 3.60 (dd, $J_{\text{gem.}} = 11.8$, $J_{H4',H5'} = 5.4$, 1H, H5'), 2.56 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta} = 12.8$, $J_{H1',H2'} = 6.4$, $J_{H3',H2'} = 6.4$, 1H, H2' β), 1.88 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta} = 12.4$, $J_{H1',H2'} = 9.7$, $J_{H3',H2'} = 7.7$, 1H, H2' α), 1.31 – 1.19 (m, 3H, -CH(CH₃)₂), 1.08 (d, $J = 6.9$, 18H, -CH(CH₃)₂). ¹³C-NMR (75.5 MHz, MeOH-d₄, 25°C): $\delta = 156.7$ (C_q, C1), 136.7 (C_q, C4), 128.5 (CH, C3), 120.6 (CH, C2), 87.1 (C4'), 80.7 (C1'), 73.4 (C3'), 63.2 (C5'), 44.6 (C2'), 18.4 (CH₃, *i*Pr), 13.9 (CH, *i*Pr). HRMS(ESI): m/z C₂₀H₃₄OSiNa⁺ ber. 389.2124 (M+Na⁺), gef. 389.2120. R_f: 0.33 (Ethylacetat). Schmelzpunkt: 62 – 63°C. $\epsilon_{260\text{ nm}} = 680\text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$.

α,β -1',2'-Dideoxy-1'-(3-indolyl)ribofuranose 99

Das Nukleosid **99** (C₁₃H₁₅NO₃, M = 233.11 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 8 aus **134cß** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloses Öl in 100 % Ausbeute (56 mg, 0.22 mmol) isoliert, welches sich als Gemisch beider Diastereomere im mittels ¹H-NMR bestimmten Verhältnis $\beta:\alpha = 2:1$ erwies. Kleinere Peaks im ¹³C-NMR weisen auf das Vorhandensein der Ribohexose hin.

¹H-NMR (300 MHz, MeOH-d₄, 25°C): $\delta = 7.78 - 7.68$ (m, 1.5H, H4), 7.38 – 7.33 (m, 1.5H, H7), 7.25 (s, 1.5H, H2) 7.15 – 7.08 (m, 1.5H, H5), 7.07 – 7.00 (m, 1.5H, H6), 5.47 (dd, $J_{H1',H2'} = 10.7$, $J_{H1',H2'} = 5.4$, 1H, H1'(β -Anomer)), 5.36 (dd, $J_{H1',H2'} = 9.6$, $J_{H1',H2'} = 6.1$, 0.5H,

H1'(α -Anomer)), 4.46 – 4.37 (m, 1.5H H3'), 4.02 – 3.95 (m, 1.5H, H4'), 3.81 – 3.64 (m, 3H, H5'), 2.64 – 2.55 (m, 0.5H, H2' β (α -Anomer)), 2.44 – 2.30 (m, 2.5H, NH + H2'(β -Anomer)), 2.26 (ddd, $J_{H2'\alpha, H2'\beta} = 13.2$, $J_{H1', H2'} = 5.7$, $J_{H3', H2'} = 2.1$, 1H, H2'), 2.17 (ddd, $J_{H2'\alpha, H2'\beta} = 13.1$, $J_{H1', H2'} = 5.4$, $J_{H3', H2'} = 1.7$, 1H, H2'(β -Anomer)), 1.87 (ddd, $J_{H2'\alpha, H2'\beta} = 14.4$, $J_{H1', H2'} = 7.1$, $J_{H3', H2'} = 7.1$, 0.5H, H2' α (α -Anomer)). ^{13}C -NMR (75.5 MHz, MeOH- d_4 , 25°C): $\delta = 138.5$ (C7a), 138.4 (C7a), 127.4 (C3a), 127.2 (C3a), 123.9, 123.7, 122.6, 120.3, 120.2, 119.9, 116.9 (C3), 115.9 (C3), 112.4 (C7), 88.7 (C4'), 86.3 (C4'), 76.0, 75.3, 74.5, 73.4 (C1', C3'), 64.1 (C5'), 63.2 (C5'), 42.4 (C2'), 42.4 (C2'). MS(ESI): m/z $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_6\text{Na}^+$ ber. 489.2 (2M+Na $^+$), gef. 489.2. R_f : 0.16 (Ethylacetat). HPLC: $t_R = 6.8$ min (Gradient 1). $\epsilon_{260\text{ nm}} = 5000\text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$.

β -1',2'-Dideoxy-1'-(2-fluorenyl)ribofuranose 92

Das Nukleosid **92** ($\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_3$, $M = 282.33\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) wurde entsprechend Vorschrift 8 aus **134eß** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Feststoff in 79 % Ausbeute (75 mg, 0.27 mmol) isoliert.

^1H -NMR (300 MHz, MeOH- d_4 , 25°C): $\delta = 7.77 - 7.72$ (m, 2H, H4, H5), 7.59 (s, 1H, H1), 7.52 (d, $J = 7.5$, 1H, H8), 7.37 (d, $J = 7.8$, 1H, H3), 7.32* (dd, $J = 7.5$, $J = 7.5$, 1H), 7.25* (dd, $J = 7.3$, $J = 7.3$, 1H, H6, H7), 5.19 (dd, $J_{H1', H2'} = 10.5$, $J_{H1', H2'} = 5.6$, 1H, H1'), 4.37 – 4.32 (m, 1H, H3'), 3.97 (td, $J_{H4', H5'} = 5.2$, $J_{H3', H4'} = 2.4$, 1H, H4'), 3.86 (s, 2H, H9), 3.75 – 3.65 (m, 2H, H5'), 2.23 (ddd, $J_{H2'\alpha, H2'\beta} = 13.2$, $J_{H1', H2'} = 5.4$, $J_{H3', H2'} = 1.7$, 1H, H2' α), 2.00 (ddd, $J_{H2'\beta, H2'\alpha} = 13.2$, $J_{H1', H2'} = 10.5$, $J_{H3', H2'} = 6.1$, 1H, H2' β). ^{13}C -NMR (75.5 MHz, MeOH- d_4 , 25°C): $\delta = 144.7$ (C_q), 144.7 (C_q), 142.7 (C_q), 142.5 (C_q), 141.8 (C_q), 127.8, 127.7, 126.1, 126.0, 123.9, 120.7, 120.5, 89.2 (C4'), 81.9 (C1'), 74.5 (C3'), 64.1 (C5'), 45.1 (C2'), 37.5 (CH₂, Fluoren). MS(EI): m/z $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_3^+$ ber. 282.1 (M $^+$), gef. 282.1. R_f : 0.37 (Ethylacetat). Schmelzpunkt: 163 – 164°C. $\epsilon_{260\text{ nm}} = 12400\text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$.

β -1',2'-Dideoxy-1'-(3-benzothiophenyl)ribofuranose 103

Das Nukleosid **103** ($\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{O}_3\text{S}$, $M = 250.31\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) wurde entsprechend Vorschrift 8 aus **134fß** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Feststoff in 82 % Ausbeute (112 mg, 0.45 mmol) isoliert.

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3 :Methanol- d_4 = 6:1, 25°C): δ = 7.87 – 7.80 (m, 2H, H4, H7), 7.41 (s, 1H, H2), 7.39 – 7.32 (m, 2H, H5, H6), 5.52 (dd, $J_{\text{H1}',\text{H2}'}$ 9.6, $J_{\text{H1}',\text{H2}'}$ 5.7, 1H, H1'), 4.42 (m, 1H, H3'), 4.02 (td, $J_{\text{H4}',\text{H5}'}$ = 4.9, $J_{\text{H3}',\text{H4}'}$ = 3.4, 1H, H4'), 3.75 (d, $J_{\text{H4}',\text{H5}'}$ = 5.0, 2H, H5'), 2.39 (ddd, $J_{\text{H2}'\alpha,\text{H2}'\beta}$ 13.3, $J_{\text{H1}',\text{H2}'}$ 5.9, $J_{\text{H3}',\text{H2}'}$ 2.4, 1H, H2' α), 2.22 (ddd, $J_{\text{H2}'\alpha,\text{H2}'\beta}$ = 13.3, $J_{\text{H1}',\text{H2}'}$ = 9.9, $J_{\text{H3}',\text{H2}'}$ = 6.5, 1H, H2' β). ^{13}C -NMR (75.5 MHz, CDCl_3 :Methanol- d_4 = 6:1, 25°C): δ = 140.9 (C_q), 137.5 (C_q), 136.5 (C_q), 124.6, 124.2, 123.0, 122.3, 122.1, 87.3 ($\text{C4}'$), 75.7, 73.0, 63.0 ($\text{C5}'$), 41.4 ($\text{C2}'$). MS(EI): m/z $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{O}_3\text{S}^+$ ber. 250.1 (M^+), gef. 250.1. R_f : 0.35 (Ethylacetat).

β -1',2'-Dideoxy-1'-(1-(4-methyl)naphthyl)ribofuranose **83**

Das Nukleosid **83** ($\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_3$, $M = 258.31 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) wurde entsprechend Vorschrift 8 aus **134gß** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloses Öl in 95 % Ausbeute (164 mg, 0.63 mmol) isoliert.

^1H -NMR (300 MHz, Methanol- d_4 , 25°C): δ = 8.08 – 8.00 (m, 2H, H5, H8), 7.62 (d, $J = 7.2$, 1H, H2), 7.53 – 7.47 (m, 2H, H6, H7), 7.29 (d, $J = 7.3$, 1H, H3), 5.85 (dd, $J_{\text{H1}',\text{H2}'}$ = 10.2, $J_{\text{H1}',\text{H2}'}$ = 5.5, 1H, H1'), 4.37 – 4.33 (m, 1H, H3'), 4.05 (td, $J_{\text{H4}',\text{H5}'}$ = 5.2, $J_{\text{H3}',\text{H4}'}$ = 2.9, 1H, H4'), 3.79 – 3.72 (m, 2H, H5'), 2.68 (s, 3H, Ar- CH_3), 2.44 (ddd, $J_{\text{H2}'\alpha,\text{H2}'\beta}$ = 13.1, $J_{\text{H1}',\text{H2}'}$ = 5.5, $J_{\text{H3}',\text{H2}'}$ = 2.0, 1H, H2' α), 1.97 (ddd, $J_{\text{H2}'\beta,\text{H2}'\alpha}$ = 13.1, $J_{\text{H1}',\text{H2}'}$ = 10.3, $J_{\text{H3}',\text{H2}'}$ = 6.1, 1H, H2' β). ^{13}C -NMR: (75.5 MHz, Methanol- d_4 , 25°C): δ = 137.1 (C_q), 134.8 (C_q), 134.0 (C_q), 132.0 (C_q), 127.2, 126.6, 126.4, 125.7, 124.7, 122.9 (C2), 88.7 ($\text{C4}'$), 78.2 ($\text{C1}'$), 74.3 ($\text{C3}'$), 64.0 ($\text{C5}'$), 43.9 ($\text{C2}'$), 19.6 (Ar- CH_3). MS(EI): m/z $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_3^+$ ber. 258.1 (M^+), gef. 258.1. R_f : 0.37 (Ethylacetat). $\epsilon_{260 \text{ nm}} = 1640 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$.

β -1',2'-Dideoxy-1'-(4-(methylthio)phenyl)ribofuranose **104**

Das Nukleosid **104** ($\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_3\text{S}$, $M = 240.32 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) wurde entsprechend Vorschrift 8 aus **134hß** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloses Öl in quantitativer Ausbeute (17 mg, 0.07 mmol) isoliert.

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3 -Methanol- d_4 6:1, 25°C): δ = 7.27 – 7.15 (m, 4H, Ar), 5.04 (dd, $J_{\text{H1}',\text{H2}'}$ 10.3, $J_{\text{H1}',\text{H2}'}$ 5.6, 1H, H1'), 4.26 (m, 1H, H3'), 3.88 (td, $J_{\text{H4}',\text{H5}'}$ = 5.1, $J_{\text{H3}',\text{H4}'}$ = 2.8, 1H, H4'), 3.63 (m, 2H, H5'), 2.41 (s, 3H, - SCH_3), 2.15 (ddd, $J_{\text{H2}'\alpha,\text{H2}'\beta}$ 13.2, $J_{\text{H1}',\text{H2}'}$ 5.6, $J_{\text{H3}',\text{H2}'}$ 1.9, 1H, H2' α), 1.90 (ddd, $J_{\text{H2}'\alpha,\text{H2}'\beta}$ 13.2, $J_{\text{H1}',\text{H2}'}$ 10.3, $J_{\text{H3}',\text{H2}'}$ 6.3, 1H, H2' β). ^{13}C -NMR (75.5

MHz, CDCl₃-Methanol-d₄ 6:1, 25°C): δ = 138.1 (C_q, Ar), 137.8 (C_q, Ar), 126.6 (CH, Ar), 87.5 (C4'), 79.8 (C1'), 73.0 (C3'), 63.0 (C5'), 43.3 (C2'), 15.8 (-SCH₃). MS(ESI): m/z C₁₂H₁₆O₃SNa⁺ ber. 263.1 (M+Na⁺), gef. 263.2. R_f: 0.42 (Ethylacetat).

β -1',2'-Dideoxy-1'-(3-tolyl)ribofuranose 96

Das Nukleosid **96** (C₁₂H₁₆O₃, M = 208.25 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 8 aus **134i** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloses Öl in 92 % Ausbeute (143 mg, 0.69 mmol) isoliert.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 7.28 – 7.10 (m, 4H), 5.13 (dd, $J_{H1',H2'} = 10.2$, $J_{H1',H2'} = 5.6$, 1H, H1'), 4.38 (ddd, 1H, $J_{H3',H2'} = 6.4$, $J_{H3',H4'} = 2.2$, $J_{H3',H2'} = 2.2$, 1H, H3'), 4.00 (td, $J_{H4',H5'} = 4.8$, $J_{H3',H4'} = 3.0$, 1H, H4'), 3.80 – 3.70 (m, 2H, H5'), 3.05 (br, 1H, -OH), 2.83 (br, 1H, -OH), 2.40 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.23 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta} = 13.3$, $J_{H1',H2'} = 5.7$, $J_{H3',H2'} = 2.0$, 1H, H2' α), 2.02 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta} = 13.3$, $J_{H1',H2'} = 10.2$, $J_{H3',H2'} = 6.3$, 1H, H2' β). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 140.9 (C_q), 138.1 (C_q), 128.5, 128.3, 126.7, 123.0, 87.2 (C4'), 80.1 (C1'), 73.5 (C3'), 63.3 (C5'), 43.5 (C2'), 21.3 (Ar-CH₃). HRMS(ESI): m/z C₁₂H₁₅O₃⁻ ber. 207.1018 (M-H⁺), gef. 207.1018. R_f: 0.47 (Ethylacetat). $\epsilon_{260\text{ nm}} = 210\text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$.^[178]

1',2'-Dideoxy-1'-(2-biphenyl)ribofuranose 93

Das Nukleosid **93** (C₁₇H₁₈O₃, M = 270.32 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 8 aus **134j** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloses Öl in 81 % Ausbeute (211 mg, 0.79 mmol) isoliert. Die Trennung des Produktes mittels präparativer HPLC ergab **94** (100 mg) und **94a** (80 mg).

β -1',2'-Dideoxy-1'-(2-biphenyl)ribofuranose

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 7.68 (dd, $J = 6.2$, $J = 0.8$, 1H, H3), 7.38 – 7.19 (m, 8H), 5.13 (dd, $J_{H1',H2'\beta} = 8.0$, $J_{H1',H2'\alpha} = 8.0$, 1H, H1'), 4.21 (ddd, $J_{H3',H2'\beta} = 4.4$, $J_{H3',H2'\alpha} = 4.4$, $J_{H3',H4'} = 4.0$, 1H, H3'), 3.72 (td, $J_{H4',H5'} = 4.0$, $J_{H3',H4'} = 4.0$, 1H, H4'), 3.68 – 3.58 (m, 2H, H5'), 2.78 (br, 2H, -OH), 1.95 – 1.92 (m, 2H, H2'). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 141.1 (C_q), 140.7 (C_q), 138.5 (C_q), 129.9, 129.1, 128.1, 127.7, 127.3, 127.1, 125.8 (alle CH-Biphenyl), 86.5 (C4'), 76.8, 73.4, 63.1 (C5'), 44.0 (C2'). HRMS(ESI): m/z C₁₇H₁₈O₃Na⁺ ber. 293.1148 (M+Na⁺), gef. 293.1150. HPLC: t_r = 23.2 min. R_f: 0.59 (CH₂Cl₂:MeOH = 9:1). $\epsilon_{260\text{ nm}} = 890\text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$.

α -1',2'-Dideoxy-1'-(2-biphenyl)ribofuranose

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 7.68 (dd, J = 6.2, J = 0.8, 1H, H3), 7.39 – 7.16 (m, 8H), 5.01 (dd, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\alpha}$ = 9.2, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\beta}$ = 6.4, 1H, H1'), 4.20 (ddd, J = 7.2, J = 7.2, J = 7.2, 1H, H3'), 3.98 (td, $J_{\text{H4}',\text{H5}'}$ = 4.4, $J_{\text{H3}',\text{H4}'}$ = 6.4, 1H, H4'), 3.66 - 3.52 (m, 2H, H5'), 2.60 (br, 2H, -OH), 2.36 (ddd, $J_{\text{H2}'\alpha,\text{H2}'\beta}$ = 13.2, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\beta}$ = 6.5, $J_{\text{H3}',\text{H2}'\beta}$ = 6.5, 1H, H2'β), 1.90 (ddd, $J_{\text{H2}'\alpha,\text{H2}'\beta}$ = 12.4, $J_{\text{H1}',\text{H2}'\alpha}$ = 9.6, $J_{\text{H3}',\text{H2}'\alpha}$ = 8.0, 1H, H2'α). $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 140.8 (C_q), 140.6 (C_q), 139.8 (C_q), 129.8, 129.1, 128.1, 127.9, 127.2, 127.1, 125.5 (alle CH-Biphenyl), 84.9 ($\text{C4}'$), 76.4, 72.5, 62.2 ($\text{C5}'$), 43.6 ($\text{C2}'$). HRMS(ESI): m/z $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_3\text{Na}^+$ ber. 293.1148 ($\text{M}+\text{Na}^+$), gef. 293.1149. HPLC: t_r = 24.3 min. R_f : 0.59 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ = 9:1).

 β -1',2'-Dideoxy-1'-(3-biphenyl)ribofuranose 94

Das Nukleosid **94** ($\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_3$, M = 270.32 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) wurde entsprechend Vorschrift 8 aus **134kß** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloses Öl in 91 % Ausbeute (40 mg, 0.15 mmol) isoliert.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 7.59 – 7.29 (m, 9H, Ar), 5.22 (dd, $J_{\text{H1}',\text{H2}'}$ = 10.2, $J_{\text{H1}',\text{H2}'}$ = 5.7, 1H, H1'), 4.38 (ddd, $J_{\text{H3}',\text{H2}'}$ = 6.4, $J_{\text{H3}',\text{H4}'}$ = 2.4, $J_{\text{H3}',\text{H2}'}$ = 2.4, 1H H3'), 4.02 (td, $J_{\text{H4}',\text{H5}'}$ = 4.9, $J_{\text{H3}',\text{H4}'}$ = 3.0, 1H, H4'), 3.77-3.67 (m, 2H, H5'), 2.95 (br, 2H, -OH), 2.26 (ddd, $J_{\text{H2}'\alpha,\text{H2}'\beta}$ = 13.2, $J_{\text{H1}',\text{H2}'}$ = 5.7, $J_{\text{H3}',\text{H2}'}$ = 2.1, 1H, H2'α), 2.03 (ddd, $J_{\text{H2}'\alpha,\text{H2}'\beta}$ = 13.2, $J_{\text{H1}',\text{H2}'}$ = 10.2, $J_{\text{H3}',\text{H2}'}$ = 6.3, 1H, H2'β). $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 141.5 (C_q), 141.4 (C_q), 140.9 (C_q), 128.9, 128.7, 127.3, 127.1, 126.6, 124.8, 87.3 ($\text{C4}'$), 80.1 ($\text{C1}'$), 73.5 ($\text{C3}'$), 63.2 ($\text{C5}'$), 43.5 ($\text{C2}'$). MS(EI): m/z $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_3\text{Na}^+$ ber. 293.1148 ($\text{M}+\text{Na}^+$), gef. 293.1151. R_f : 0.38 (Ethylacetat). $\epsilon_{260\text{ nm}}$ = 13200 $\text{l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$.

 β -1',2'-Dideoxy-1'-(1-phenanthrenyl)ribofuranose 82

Das Nukleosid **82** ($\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_3$, M = 294.34 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) wurde entsprechend Vorschrift 8 aus **134lß** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Feststoff in 80 % Ausbeute (93 mg, 0.32 mmol) isoliert.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-d_6 , 25°C): δ = 8.84 (d, J = 7.8, 1H), 8.78 (d, J = 8.3, 1H, H4 + H5), 8.02 – 7.98 (m, 2H, H9, Ar), 7.90 (d, J = 9.0, 1H, H10), 7.87 (d, J = 5.7, 1H, Ar), 7.73 – 7.63 (m, 3H, H3, H6, H7), 5.82 (dd, $J_{\text{H1}',\text{H2}'}$ = 10.1, $J_{\text{H1}',\text{H2}'}$ = 5.5, 1H, H1'), 5.20 (d, J = 4.3, 1H, OH), 4.85 (d, J = 5.6, 1H, OH), 4.25 (td, $J_{\text{H3}',\text{H2}'}$ = 6.0, $J_{\text{H3}',\text{H4}'}$ = 2.1, 1H, H3'), 3.93 (td,

$J_{H4',H5'} = 5.1$, $J_{H3',H4'} = 2.6$, 1H, H4'), 3.58 (m, 2H, H5'), 2.39 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta} = 12.7$, $J_{H1',H2'} = 5.6$, $J_{H3',H2'} = 1.9$, 1H, H2' α), 2.11 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta} = 12.7$, $J_{H1',H2'} = 10.2$, $J_{H3',H2'} = 5.9$, 1H, H2' β). ^{13}C -NMR (75.5 MHz, DMSO- d_6 , 25°C): $\delta = 139.7$ (C_q, C1), 131.5 (C_q), 130.5 (C_q), 130.2 (C_q), 128.8, 128.8, 127.4, 127.3, 126.9, 123.6, 122.5, 122.4, 88.0 (C4'), 76.6 (C1'), 72.8 (C3'), 62.8 (C5'), 43.3 (C2'). HRMS(ESI): m/z C₁₉H₁₈O₃Na⁺ ber. 317.1144 (M+Na⁺), gef. 317.1148. R_f: 0.28 (Ethylacetat). Schmelzpunkt: 163 – 165°C. $\epsilon_{260\text{ nm}} = 48600\text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$.

β -1',2'-Dideoxy-1'-(3-phenanthrenyl)ribofuranose 87

Das Nukleosid **87** (C₁₉H₁₈O₃, M = 294.34 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 8 aus **134mB** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Feststoff in 87 % Ausbeute (247 mg, 0.84 mmol) isoliert.

^1H -NMR (300 MHz, MeOH- d_4 , 25°C): $\delta = 8.70$ (s, 1H, H4), 8.69 (d, $J = 8.8$, 1H, H5), 7.81 – 7.71 (m, 2H, H1, H8), 7.63 (s, 2H, H9, H10), 7.59 – 7.47 (m, 3H, H2, H6, H7), 5.38 (dd, $J_{H1',H2'} = 10.4$, $J_{H1',H2'} = 5.5$, 1H, H1'), 4.35 (ddd, 1H, $J_{H3',H2'} = 5.9$, $J_{H3',H2'} = 1.9$, $J_{H3',H4'} = 1.9$, H3'), 4.03 (td, 1H, $J_{H4',H5'} = 5.0$, $J_{H3',H4'} = 2.5$, H4'), 3.74 (d, $J_{H4',H5'} = 5.0$, 2H, H5'), 2.28 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta} = 13.1$, $J_{H1',H2'} = 5.5$, $J_{H3',H2'} = 1.7$, 1H, H2' α), 2.03 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta} = 13.1$, $J_{H1',H2'} = 10.4$, $J_{H3',H2'} = 5.9$, 1H, H2' β). ^{13}C -NMR (75.5 MHz, MeOH- d_4 , 25°C): $\delta = 141.6$ (C_q, C3), 133.6 (C_q), 132.9 (C_q), 131.6 (C_q), 131.4 (C_q), 129.7, 129.5, 127.8, 127.7, 127.7, 127.6, 125.8, 123.8 (C5), 121.1 (C4), 89.3 (C4'), 82.0 (C1'), 74.4 (C3'), 64.1 (C5'), 45.2 (C2'). HRMS(ESI): m/z C₁₉H₁₈O₃Na⁺ ber. 317.1148 (M+Na⁺), gef. 317.1153. R_f: 0.20 (Ethylacetat). Schmelzpunkt: 115 – 116°C.

β -1'',2''-Dideoxy-1''-(R,S-[1,1']binaphthylen-4-yl)ribofuranose 84

Das Nukleosid **84** (C₂₅H₂₂O₃, M = 370.44 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 8 aus **134nB** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Feststoff in 93 % Ausbeute (158 mg, 0.43 mmol) isoliert. Da es sich bei der Verbindung um ein auf der NMR-Zeitskala nicht auflösbares R,S-Diastereomengemisch handelt wird besonders an den H2'-Protonen ersichtlich. Die einzelnen Peaks der breiten Multipletts konnten jeweils zwei verschiedenen Spezies zugeordnet werden.

^1H -NMR (300 MHz, MeOH- d_4 , 25°C): $\delta = 8.17$ (d, $J = 8.4$, 1H, H5), 7.97 – 7.91 (m, 2H, H4', H5'), 7.89 (d, $J = 7.4$, 1H, H3), 7.57 (dd, $J = 8.3$, $J = 7.0$, 1H, H3'), 7.52 – 7.38 (m, 4H, H2,

H6, H2', H6'), 7.31 – 7.26 (m, 1H, H8), 7.26 – 7.20 (m, 3H), 6.03 – 5.95 (m, 1H, H1'), 4.44 – 4.39 (ddd, $J = 4.7, 4.7, 2.3$, 1H, H3'), 4.13 – 4.08 (td, $J_{H4'',H5''} = 5.2$, $J_{H3'',H4''} = 2.9$, 1H, H4'), 3.84 – 3.73 (m, 2H, H5'), 2.59 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta} = 13.1$, $J_{H1',H2'} = 5.6$, $J_{H3',H2'} = 1.9$, 1H, H2'α), 2.56 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta} = 13.1$, $J_{H1',H2'} = 5.6$, $J_{H3',H2'} = 1.9$, 1H, H2'α), 2.12 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta} = 13.1$, $J_{H1',H2'} = 10.3$, $J_{H3',H2'} = 6.1$, 1H, H2'β), 2.08 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta} = 13.1$, $J_{H1',H2'} = 10.3$, $J_{H3',H2'} = 6.1$, 1H, H2'β). ^{13}C -NMR (75.5 MHz, MeOH- d_4 , 25°C): $\delta = 139.8$ (C_q), 139.4 (C_q), 139.1 (C_q), 135.0 (C_q), 134.2 (C_q), 134.2 (C_q), 132.0 (C_q), 131.9 (C_q), 129.2, 129.0, 128.8, 128.8, 128.5, 128.2, 127.3, 127.3, 126.9, 126.8, 126.6, 126.4, 126.4, 124.5, 122.8, 122.8, 88.9 (C4'), 78.3 (C1'), 78.2 (C1'), 74.4 (C3'), 64.0 (C5'), 44.1 (C2'), 44.0 (C2'). HRMS(EI): m/z C₂₅H₂₂O₃⁺ ber. 370.1568 (M⁺), gef. 370.1568. R_f: 0.29 (Ethylacetat). Schmelzpunkt: 164 – 166°C. $\epsilon_{260\text{ nm}} = 8400\text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$.

β-1',2'-Didesoxy-1'-(2-(7-phenyl)naphthyl)ribofuranose 88

Das Nukleosid **88** (C₂₁H₂₀O₃, M = 320.38 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 8 aus **134oß** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Feststoff in 92 % Ausbeute (101 mg, 0.32 mmol) isoliert.

^1H -NMR (300 MHz, MeOH- d_4 , 25°C): $\delta = 8.06$ (s, 1H) und 7.94 (s, 1H, H1, H8), 7.90 (d, $J = 8.5$, 1H) und 7.85 (d, $J = 8.4$, 1H, H4, H5), 7.76–7.71 (m, 3H, Ph, H6), 7.54 – 7.43 (m, 3H, Ph, H3), 7.37 – 7.33 (m, 1H, Ph), 5.31 (dd, $J_{H1',H2'} = 10.5$, $J_{H1',H2'} = 5.4$, 1H, H1'), 4.43 (m, 1H, H3'), 4.03 (td, $J_{H4',H5'} = 5.0$, $J_{H3',H4'} = 2.4$, 1H, H4'), 3.74 (m, 2H, H5'), 2.29 (dd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta} = 13.1$, $J_{H1',H2'} = 5.7$, 1H, H2'α), 2.06 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta} = 12.9$, $J_{H1',H2'} = 10.6$, $J_{H3',H2'} = 6.1$, 1H, H2'β). ^{13}C -NMR (75 MHz, MeOH- d_4 , 25°C): $\delta = 142.3$ (C_q), 141.2 (C_q), 140.0 (C_q), 135.0 (C_q), 133.7 (C_q), 129.9 (CH, Ph), 129.3, 128.8, 128.4, 128.3 (CH, Ph), 126.6, 126.4, 126.2, 125.4, 89.3 (C4'), 81.7 (C1'), 74.5 (C3'), 64.1 (C5'), 44.9 (C2'). HRMS(ESI): m/z C₂₁H₂₀O₃Na⁺ ber. 343.1307 (M+Na⁺), gef. 343.1307. R_f: 0.38 (Ethylacetat). Schmelzpunkt: 125 – 127°C. $\epsilon_{260\text{ nm}} = 39840\text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$.

β-1',2'-Didesoxy-1'-(2-(7-methyl)naphthyl)ribofuranose 89

Das Nukleosid **89** (C₁₆H₁₈O₃, M = 258.31 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 8 aus **134pß** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Feststoff in 64 % Ausbeute (71 mg, 0.28 mmol) isoliert.

^1H -NMR (300 MHz, Methanol- d_4 , 25°C): δ = 7.74 – 7.65 (m, 3H, H1, H4, H5), 7.56 (s, 1H, H8), 7.40 (dd, J = 8.6, J = 1.6, 1H, H3), 7.25 (dd, J = 8.4, J = 1.6, 1H, H6), 5.23 (dd, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 10.5$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 5.4$, 1H, H1'), 4.34 – 4.30 (m, 1H, H3'), 3.96 (td, $J_{\text{H4}',\text{H5}'} = 5.1$, $J_{\text{H3}',\text{H4}'} = 2.4$, 1H, H4'), 3.73 – 3.63 (m, 2H, H5'), 2.44 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.21 (ddd, $J_{\text{H2}'\alpha,\text{H2}'\beta} = 13.1$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 5.5$, $J_{\text{H3}',\text{H2}'} = 1.7$, 1H, H2' α), 2.00 (ddd, $J_{\text{H2}'\beta,\text{H2}'\alpha} = 13.1$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 10.5$, $J_{\text{H3}',\text{H2}'} = 5.9$, 1H, H2' β). ^{13}C -NMR (75.5 MHz, Methanol- d_4 , 25°C): δ = 140.6 (C_q), 136.9 (C_q), 135.0 (C_q), 132.8 (C_q), 129.0, 128.8, 128.5, 127.8, 125.3, 124.4, 89.3 (C4'), 81.8 (C1'), 74.5 (C3'), 64.1 (C5'), 44.9 (C2'), 21.7 (Ar-CH₃). HRMS(ESI): m/z C₁₆H₁₈O₃Na⁺ ber. 281.1148 (M+Na⁺), gef. 281.1152 R_f: 0.22 (Ethylacetat). Schmelzpunkt: 109 – 111°C. $\epsilon_{260\text{ nm}}$ = 4475 l·mol⁻¹·cm⁻¹.

β -1',2'-Didesoxy-1'-(2-anthracenyl)ribofuranose 90

Das Nukleosid **90** (C₁₉H₁₈O₃, M = 294.34 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 8 aus **134q β** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Feststoff in 57 % Ausbeute (99 mg, 0.34 mmol) isoliert.

^1H -NMR (300 MHz, CDCl₃/MeOH- d_4 = 6:1, 25°C): δ = 8.32 (s, 2H, H9, H10), 7.93 – 7.89 (m, 4H, H1, H4, H5, H8), 7.40 – 7.35 (m, 3H, H3, H6, H7), 5.28 (dd, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 10.2$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 5.6$, 1H, H1'), 4.33 (ddd, $J_{\text{H3}',\text{H2}'\beta} = 5.5$, $J_{\text{H3}',\text{H4}'} = 2.2$, $J_{\text{H3}',\text{H2}'\alpha} = 2.2$, 1H, H3'), 3.98 (td, $J_{\text{H4}',\text{H5}'} = 5.1$, $J_{\text{H3}',\text{H4}'} = 2.8$, 1H, H4'), 3.70 (m, 2H, H5'), 2.25 (ddd, $J_{\text{H2}'\alpha,\text{H2}'\beta} = 13.2$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 5.7$, $J_{\text{H3}',\text{H2}'} = 1.9$, 1H, H2'), 2.11 (ddd, $J_{\text{H2}'\alpha,\text{H2}'\beta} = 13.2$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 10.3$, $J_{\text{H3}',\text{H2}'} = 6.2$, 1H, H2'). ^{13}C -NMR (75.5 MHz, CDCl₃/MeOH- d_4 = 6:1, 25°C): δ = 137.8 (C_q, C2), 131.5 (C_q), 131.4 (C_q), 131.0 (C_q), 130.9 (C_q), 128.2, 127.7 und 127.7 (C4, C5, C8), 125.8 und 125.6 (C9, C10), 125.0 und 124.9 (C6, C7), 124.4 und 123.4 (C1, C3), 87.4 (C4'), 80.2 (C1'), 72.8 (C3'), 62.6 (C5'), 42.7 (C2'). HRMS(EI): m/z C₁₉H₁₈O₃⁺ ber. 294.1256 (M⁺), gef. 294.1256. R_f-Wert: 0.48 (Ethylacetat).

β -1',2'-Didesoxy-1'-(2-naphthyl)ribofuranose 91

Das Nukleosid **91** (C₁₅H₁₆O₃, M = 244.29 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 8 aus **134s β** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Feststoff in 89 % Ausbeute (172 mg, 0.70 mmol) isoliert.

^1H -NMR (300 MHz, MeOH- d_4 , 25°C): δ = 7.75 (s, 1H, H1), 7.71 – 7.68 (m, 3H, H4, H5, H8), 7.41 (d, J = 8.5, 1H, H3), 7.37 – 7.30 (m, 2H, H6, H7), 5.22 (dd, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 10.5$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 5.4$,

1H, H1'), 4.31 – 4.28 (m, 1H, H3'), 3.98 (td, 1H, $J_{H4',H5'} = 5.1$, $J_{H3',H4'} = 2.4$, H4'), 3.71 – 3.61 (m, 2H, H5'), 2.18 (ddd, $J_{H2'\beta,H2'\alpha} = 13.1$, $J_{H1',H2'} = 5.4$, $J_{H3',H2'} = 1.4$, 1H, H2'α), 1.94 (ddd, $J_{H2'\beta,H2'\alpha} = 13.1$, $J_{H1',H2'} = 10.6$, $J_{H3',H2'} = 5.9$, 1H, H2'β). ¹³C-NMR (75.5 MHz, MeOH-d₄, 25°C): δ = 140.4 (C_q), 134.6 (C_q), 134.4 (C_q), 129.0, 128.8, 128.6, 127.0, 126.8, 125.8, 125.2, 89.2 (C4'), 81.6 (C1'), 74.4 (C3'), 64.0 (C5'), 44.8 (C2'). MS(EI): *m/z* C₃₀H₃₂O₆⁺ ber. 511.2 (2M+Na⁺), gef. 511.2. R_f: 0.32 (Ethylacetat). ε_{260 nm} = 2000 l·mol⁻¹·cm⁻¹.^[39]

β-1',2'-Dideoxy-1'-(1-indolyl)ribofuranose **98**^[58]

Das Nukleosid **98** (C₁₃H₁₅NO₃, M = 233.11 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 8 aus **134tβ** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloses Öl in 82 % Ausbeute (124 mg, 0.53 mmol) isoliert.

¹H-NMR (300 MHz, MeOH-d₄, 25°C): δ = 7.55 (d, $J = 7.7$, 1H) und 7.50 (d, $J = 8.2$, 1H, H4, H7), 7.42 (d, $J = 3.4$, 1H, H2), 7.17 (ddd, $J = 8.3$, $J = 7.2$, $J = 1.2$, 1H) und 7.14 – 7.04 (m, 1H, H5, H6), 6.52 (d, $J = 3.4$, 1H, H3), 6.44 (dd, $J_{H1',H2'} = 7.9$, $J_{H1',H2'} = 6.4$, 1H, H1'), 4.47 (ddd, $J_{H3',H2'} = 6.3$, $J_{H3',H2'} = 2.3$, $J_{H3',H4'} = 2.3$, 1H, H3'), 3.98 (td, $J_{H4',H5'} = 4.6$, $J_{H3',H4'} = 4.3$, 1H, H4'), 3.73 (dd, $J_{\text{gem.}} = 11.9$, $J_{H4',H5'} = 4.1$, 1H, H5'), 3.75 – 3.63 (m, 1H, H5'), 2.57 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta} = 13.8$, $J_{H1',H2'} = 7.7$, $J_{H3',H2'} = 6.2$, 1H, H2'), 2.30 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta} = 13.5$, $J_{H1',H2'} = 5.6$, $J_{H3',H2'} = 3.2$, 1H, H2'). ¹³C-NMR (75 MHz, MeOH-d₄, 25°C): δ = 137.6 (C_q, C8), 130.5 (C_q, C9), 125.4 (C2), 122.8 (CH, Indol), 121.7 (CH, Indol), 121.0 (CH, Indol), 110.8 (C7), 103.8 (C3), 87.9, 85.9, 72.6 (C3'), 63.5 (C5'), 40.7 (C2'). MS(EI): *m/z* C₁₃H₁₆NO₃⁺ ber. 234.2 (M⁺), gef. 234.2. R_f: 0.50 (Ethylacetat). ε_{260 nm} = 3750 l·mol⁻¹·cm⁻¹.

β-1',2'-Dideoxy-1'-(4-biphenyl)ribofuranose **95**

Das Nukleosid **95** (C₁₇H₁₈O₃, M = 270.32 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 8 aus **134uβ** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Feststoff in 90 % Ausbeute (239 mg, 0.90 mmol) isoliert.

¹H-NMR (300 MHz, MeOH-d₄, 25°C): δ = 7.63 – 7.57 (m, 4H, Ar), 7.50 – 7.39 (m, 4H, Ar), 7.36 – 7.29 (m, 1H, Ar), 5.19 (dd, $J_{H1',H2'} = 10.5$, $J_{H1',H2'} = 5.4$, 1H, H1'), 4.38 – 4.34 (m, 1H, H3'), 3.99 (td, $J_{H4',H5'} = 5.1$, $J_{H3',H4'} = 2.4$, 1H, H4'), 3.76–3.65 (m, 2H, H5'), 2.24 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta} = 13.1$, $J_{H1',H2'} = 5.4$, $J_{H3',H2'} = 1.6$, 1H, H2'α), 2.00 (ddd, $J_{H2'\beta,H2'\alpha} = 13.1$, $J_{H1',H2'} =$

10.5, $J_{\text{H3}',\text{H2}'} = 5.9$, 1H, H2' β). ^{13}C -NMR (75.5 MHz, MeOH- d_4 , 25°C): $\delta = 142.3$ (C_q), 142.1 (C_q), 141.8 (C_q), 129.8, 128.3, 127.9, 127.7, 89.2 ($\text{C4}'$), 81.4 ($\text{C1}'$), 74.5 ($\text{C3}'$), 64.1 ($\text{C5}'$), 44.9 ($\text{C2}'$). HRMS(ESI): m/z $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_3\text{K}^+$ ber. 309.1 (M^+), gef. 309.1. R_f : 0.30 (Ethylacetat). $\epsilon_{260\text{ nm}} = 19000\text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$.^[27]

β -1',2'-Didesoxy-1'-phenyloxoribofuranose 97

Das Nukleosid **97** ($\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_4$, $M = 210.23\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) wurde entsprechend Vorschrift 8 aus **142c** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloses Öl in 94 % Ausbeute (54 mg, 0.26 mmol) isoliert.

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 7.33 - 7.28$ (m, 2H, H3), 7.05 – 7.00 (m, 3H, H2, H4), 5.89 (dd, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 5.5$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 1.9$, 1H, H1'), 4.65 – 4.59 (m, 1H, H3'), 4.08 (td, $J_{\text{H4}',\text{H5}'} = 4.3$, $J_{\text{H3}',\text{H4}'} = 4.3$, 1H, H4'), 3.73 (dd, $J_{\text{gem.}} = 11.9$, $J_{\text{H4}',\text{H5}'} = 4.1$, 1H, H5'), 3.66 (dd, $J_{\text{gem.}} = 12.0$, $J_{\text{H4}',\text{H5}'} = 4.6$, 1H, H5'), 2.53 (ddd, $J_{\text{H2}'\alpha,\text{H2}'\beta} = 13.7$, $J_{\text{H3}',\text{H2}'} = 6.8$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 1.8$, 1H, H2' α), 2.30 (ddd, $J_{\text{H2}'\alpha,\text{H2}'\beta} = 13.7$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 5.8$, $J_{\text{H3}',\text{H2}'} = 5.8$, 1H, H2'). ^{13}C -NMR: (75.5 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 156.5$ (C_q , C1), 129.5 (C3), 122.1 (C4), 116.3 (C2), 102.2 (C1'), 87.3 (C4'), 71.3 (C3'), 62.9 (C5'), 41.9 (C2'). HRMS(EI): m/z $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_4^+$ ber. 210.0892 (M^+), gef. 210.0892. R_f : 0.52 (Ethylacetat). $\epsilon_{260\text{ nm}} = 755\text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$.

DMT-Ether

Vorschrift 9: Die β -1',2'-Didesoxy-1'-(4-triisopropylsilyloxyphenyl)ribofuranose **101** (95 mg; 0.26 mmol) wurde 2x mit trockenem Pyridin coevaporiert. Dann wurde es in trockenem Pyridin (5 ml) gelöst und DIPEA (0.11 ml, 0.63 mmol) wurde hinzugefügt. Unter Rühren wurde Dimethoxytritylchlorid (105 mg, 0.31 mmol), gelöst in trockenem Pyridin (1 ml) in 3 Portionen im Abstand von 20 Minuten hinzugegeben. Nach 3 h wurde Methanol (2 ml) zugegeben. Das Lösungsmittel wurde unter reduziertem Druck entfernt. Flash-Chromatographie über basisches Aluminiumoxid (Cycohexan:Ethylacetat = 3:1→1:3) ergab 87 mg (50 %, 0.13 mmol) eines farblosen schaumigen Produktes **146b β** .

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-Didesoxy-1'-(4-triisopropylsilyloxyphenyl)ribofuranose 146b β

Die Synthese von **146b β** ($\text{C}_{41}\text{H}_{52}\text{O}_6\text{Si}$, $M = 668.93\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) wird in Vorschrift 9 beschrieben.

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 7.49 – 7.45 (m, 2H, DMT), 7.29 – 7.10 (m, 9H, Ar), 6.77 – 6.68 (m, 6H, Ar), 5.12 (dd, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 10.4$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 5.3$, 1H, H1'), 4.35 – 4.31 (m, 1H, H3'), 4.07 (td, $J_{\text{H4}',\text{H5}'} = 4.3$, $J_{\text{H3}',\text{H4}'} = 2.2$, 1H, H4'), 3.70 (s, 6H, Ar- OCH_3), 3.30 – 3.22 (m, 2H, H5'), 2.16 (ddd, $J_{\text{H2}'\alpha,\text{H2}'\beta} = 12.8$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 5.3$, $J_{\text{H3}',\text{H2}'} = 1.4$, 1H, H2'), 2.01 (ddd, $J_{\text{H2}'\alpha,\text{H2}'\beta} = 13.0$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 10.5$, $J_{\text{H3}',\text{H2}'} = 5.7$, 1H, H2'), 1.33 – 1.18 (m, 3H, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.10 (d, $J = 6.9$, 18H, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$). ^{13}C -NMR (75.5 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 160.0 (C_q , DMT), 156.8 (C_q , -OPh), 146.4 (C_q , DMT), 137.3 (C_q , DMT), 137.3 (C_q , DMT), 135.7 (C_q , -OPh), 131.3 (CH, DMT), 129.4, 128.7, 127.7 (CH, DMT), 120.7 (CH, -OPh), 114.0 (CH, DMT), 87.9, 87.4, 81.5, 74.9 ($\text{C3}'$), 65.9 ($\text{C5}'$), 55.7 (OCH_3 , DMT), 44.8 ($\text{C2}'$), 18.4 (CH_3 , *i*Pr), 13.8 (CH, *i*Pr). HRMS(ESI): m/z $\text{C}_{41}\text{H}_{52}\text{O}_6\text{Na}^+$ ber. 691.3427 ($\text{M}+\text{Na}^+$), gef. 691.3425. R_f : 0.34 (Cyclohexan:Ethylacetat = 3:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- α -1',2'-Dideoxy-1'-(4-triisopropylsilyloxyphenyl)ribofuranose 146ba

Das 5'-DMT-geschütztes Nukleosid **146ba** ($\text{C}_{41}\text{H}_{52}\text{O}_6\text{Si}$, $M = 668.93 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) wurde entsprechend Vorschrift 9 aus α -1',2'-Dideoxy-1'-(4-triisopropylsilyloxyphenyl)ribofuranose **102** synthetisiert. Nach der säulen-chromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 50 % Ausbeute (140 mg, 0.21 mmol) isoliert.

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 7.53 – 7.49 (m, 2H, DMT), 7.42 – 7.20 (m, 9H, Ar), 6.93 – 6.84 (m, 6H, Ar), 5.08 (dd, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 8.3$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 6.8$, 1H, H1'), 4.45 (ddd, $J_{\text{H3}',\text{H2}'} = 6.7$, $J_{\text{H3}',\text{H2}'} = 2.1$, $J_{\text{H3}',\text{H4}'} = 4.9$, 1H, H3'), 4.22 – 4.17 (m, 1H, H4'), 3.82 (s, 6H, Ar- OCH_3), 3.41 (dd, $J_{\text{gem.}} = 9.5$, $J_{\text{H4}',\text{H5}'} = 4.7$, 1H, H5'), 3.26 (dd, $J_{\text{gem.}} = 9.5$, $J_{\text{H4}',\text{H5}'} = 6.0$, 1H, H5'), 2.66 (ddd, $J_{\text{H2}'\alpha,\text{H2}'\beta} = 13.1$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 6.7$, $J_{\text{H3}',\text{H2}'} = 6.7$, 1H, H2'), 2.05 (ddd, $J_{\text{H2}'\alpha,\text{H2}'\beta} = 12.7$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 8.4$, $J_{\text{H3}',\text{H2}'} = 6.8$, 1H, H2'), 1.36 – 1.24 (m, 3H, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.15 (d, $J = 6.9$, 18H, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$). ^{13}C -NMR (75.5 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 158.4 (C_q , DMT), 155.4 (C_q , -OPh), 144.7 (C_q , DMT), 135.9 (C_q , DMT), 135.8 (C_q , DMT), 134.8 (C_q , -OPh), 129.9, 129.0, 128.0, 127.8, 127.7, 127.7, 127.0, 126.7 (CH, DMT), 119.7 (CH, -OPh), 113.0 (CH, DMT), 86.2, 84.1, 79.5, 75.1 ($\text{C3}'$), 64.7 ($\text{C5}'$), 55.1 (OCH_3 , DMT), 42.9 ($\text{C2}'$), 17.8 (CH_3 , *i*Pr), 12.5 (CH, *i*Pr). HRMS(ESI): m/z $\text{C}_{41}\text{H}_{52}\text{O}_6\text{Na}^+$ ber. 691.3427 ($\text{M}+\text{Na}^+$), gef. 691.3433. R_f : 0.30 (Cyclohexan:Ethylacetat = 3:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- α,β -1',2'-dideoxy-1'-(3-indolyl)ribofuranose 146c

Das 5'-DMT-geschütztes Nukleosid **146ca β** (C₃₄H₃₃NO₅, M = 535.63 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 9 aus α,β -1',2'-Dideoxy-1'-(3-indolyl)ribofuranose **99** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 49 % Ausbeute (55 mg, 0.11 mmol) isoliert. Das Produkt liegt als Gemisch beider Diastereomere im mittels ¹H-NMR bestimmten Verhältnis $\beta:\alpha = 3:1$ vor.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 8.20 (s, 0.25H, NH), 8.20 (s, 0.75H, NH), 7.80 (d, J = 7.5, 0.25H, H7), 7.74 (d, J = 8.0, 0.75H, H7), 7.54 – 7.02 (m, 13H), 6.90 – 6.78 (m, 4H, DMT), 5.54 – 5.47 (m, 1H, H1'), 4.56 – 4.47 (m, 1H H3'), 4.25 – 4.19 (m, 0.25H, H4'), 4.14 – 4.09 (m, 0.75H, H4'), 3.82 – 3.78 (m, 6H, Ar-OCH₃), 3.46 – 3.40 (m, 1H, H5'), 3.34 – 3.26 (m, 1H, H5'), 2.49 – 2.38 (m, 1H, H2'), 2.30 – 2.23 (m, 1H, H2'), 2.15 (br, 1H, -OH).
¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 158.4 (C_q, DMT), 158.3 (C_q, DMT), 144.8 (C_q, DMT), 144.8 (C_q, DMT), 136.6 (C7a), 136.5 (C7a), 136.0 (C_q, DMT), 135.9 (C_q, DMT), 130.0, 130.0, 130.0, 128.1, 128.1, 127.8, 127.7, 126.7, 126.7, 125.8, 125.8, 122.2, 122.0, 121.7, 121.6, 119.8, 119.6, 119.5, 119.4, 117.3 (C3), 116.2 (C3), 113.1 (CH, DMT), 113.0 (CH, DMT), 111.3 (C7), 111.3 (C7), 86.2, 86.1, 85.7, 83.7 (DMT, C4'), 75.2, 74.7, 74.4, 73.9 (C3', C1'), 64.8 (C5'), 64.5 (C5'), 55.1 (OCH₃, DMT), 41.6 (C2'), 40.7 (C2'). MS(ESI): m/z C₃₄H₃₃NO₅Na⁺ ber. 558.2 (M+Na⁺), gef. 558.2. R_f: 0.15 (Cyclohexan:Ethylacetat = 1:1). HPLC: t_R = 16.8 min (Gradient 2).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(2-fluorenyl)ribofuranose **146e**

Das 5'-DMT-geschütztes Nukleosid **146e** (C₃₉H₃₆O₅, M = 584.70 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 9 aus β -1',2'-Dideoxy-1'-(2-fluorenyl)ribofuranose **92** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 77 % Ausbeute (119 mg, 0.20 mmol) isoliert.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 7.81 (d, J = 7.4, 1H, Ar), 7.76 (d, J = 7.8, 1H, Ar), 7.66 (s, 1H, H1), 7.58 – 7.55 (m, 3H), 7.46 – 7.26 (m, 10H), 6.87 (d, J = 8.9, 4H, DMT), 5.31 (dd, $J_{H1',H2'} = 10.6$, $J_{H1',H2'} = 5.6$, 1H, H1'), 4.53 – 4.48 (m, 1H, H3'), 4.16 (td, $J_{H4',H5'} = 4.6$, $J_{H3',H4'} = 2.4$, 1H, H4'), 3.87 (s, 2H, Fluoren-H9), 3.81 (s, 6H, Ar-OCH₃), 3.44 (dd, J = 9.8, J = 4.5, 1H, H5'), 3.38 (dd, J = 9.8, J = 5.2, 1H, H5'), 2.33 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta} = 13.0$, $J_{H1',H2'} = 5.5$, $J_{H3',H2'} = 1.5$, 1H, H2'), 2.17 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta} = 13.2$, $J_{H1',H2'} = 10.3$, $J_{H3',H2'} = 5.9$, 1H, H2').
¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 158.3 (C_q, DMT), 144.8 (C_q), 143.3 (C_q), 143.2 (C_q), 141.4 (C_q), 141.1 (C_q), 140.4 (C_q), 136.0 (C_q, DMT), 130.0 (CH, DMT), 128.1 (CH,

DMT), 127.7 (CH, DMT), 126.7, 126.6, 126.5, 124.9, 124.8, 122.6, 119.7, 119.5, 113.0 (CH, DMT), 86.3, 86.1 (DMT, C4'), 80.2 (C1'), 74.6 (C3'), 64.5 (C5'), 55.1 (OCH₃, DMT), 44.0 (C2'), 36.7 (CH₂, Fluoren). HRMS(ESI): m/z C₃₉H₃₆O₅Na⁺ ber. 607.2460 (M+Na⁺), gef. 607.2460. R_f: 0.22 (Cyclohexan:Ethylacetat = 2:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-β-1',2'-dideoxy-1'-(1-(4-methyl)naphthyl)ribofuranose 146g

Das 5'-DMT-geschütztes Nukleosid **146g** (C₃₇H₃₆O₅, M = 560.68 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 9 aus β-1',2'-Dideoxy-1'-(1-(4-methyl)naphthyl)ribofuranose **83** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 83 % Ausbeute (73 mg, 0.13 mmol) isoliert.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 8.09 – 8.02 (m, 2H, H5, H8), 7.61 (d, J = 7.3, 1H, H2), 7.55-7.45 (m, 4H), 7.40 – 7.35 (m, 4H), 7.32 – 7.21 (m, 4H), 6.85 – 6.79 (m, 4H, DMT), 5.87 (dd, $J_{H1',H2'} = 9.4$, $J_{H1',H2'} = 5.9$, 1H, H1'), 4.50 – 4.45 (m, 1H, H3'), 4.17 – 4.12 (m, 1H, H4'), 3.79 (s, 6H, Ar-OCH₃), 3.46 (dd, $J_{gem.} = 9.7$, $J_{H4',H5'} = 4.5$, 1H, H5'), 3.36 (dd, $J_{gem.} = 9.7$, $J_{H4',H5'} = 5.5$, 1H, H5'), 2.68 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.49 (ddd, $J_{H2',H2''} = 13.1$, $J_{H1',H2'} = 6.0$, $J_{H3',H2'} = 2.7$, 1H, H2'), 2.14 (ddd, $J_{H2',H2''} = 13.1$, $J_{H1',H2'} = 9.5$, $J_{H3',H2'} = 6.4$, 1H, H2'). ¹³C-NMR: (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 158.4 (C_q, DMT), 144.8 (C_q, DMT), 136.0 (C_q, DMT), 135.8 (C_q), 133.7 (C_q), 132.6 (C_q), 130.5 (C_q), 130.0 (CH, DMT), 130.0 (CH, DMT), 128.1 (CH, DMT), 127.8 (CH, DMT), 126.7, 126.2, 125.5, 125.3, 124.7, 123.8, 121.9 (C2), 113.0 (CH, DMT), 86.2, 85.6 (DMT, C4'), 77.1 (C1'), 74.4 (C3'), 64.2 (C5'), 55.1 (OCH₃, DMT), 42.8 (C2'), 19.5 (Ar-CH₃). HRMS(ESI): m/z C₃₇H₃₆O₅Na⁺ ber. 583.2460, gef. 583.2466. R_f: 0.24 (Cyclohexan:Ethylacetat = 2:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-β-1',2'-dideoxy-1'-(3-tolyl)ribofuranose 146i

Das 5'-DMT-geschütztes Nukleosid **146i** (C₃₃H₃₄O₅, M = 510.62 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 9 aus β-1',2'-Dideoxy-1'-(3-tolyl)ribofuranose **96** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 69 % Ausbeute (237 mg, 0.35 mmol) isoliert.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 7.81 (d, J = 7.4, 1H), 7.76 (d, J = 7.8, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.58 – 7.55 (m, 3H), 7.46 – 7.26 (m, 10H), 6.87 (d, J = 8.9, 4H, DMT), 5.19 (dd, $J_{H1',H2'} = 10.1$, $J_{H1',H2'} = 5.6$, 1H, H1'), 4.48 – 4.44 (m, 1H, H3'), 4.14 – 4.09 (m, 1H, H4'), 3.82 (s,

6H, Ar-OCH₃), 3.40 (dd, $J_{\text{gem.}} = 9.7$, $J_{\text{H4'},\text{H5'}} = 4.5$, 1H, H5'), 3.33 (dd, $J_{\text{gem.}} = 9.6$, $J_{\text{H4'},\text{H5'}} = 5.3$, 1H, H5'), 2.36 (s, 6H, Ar-CH₃), 2.27 (ddd, $J_{\text{H2'}\alpha,\text{H2'}\beta} = 13.1$, $J_{\text{H1'},\text{H2'}} = 5.6$, $J_{\text{H3'},\text{H2'}} = 1.7$, 1H, H2'), 2.18 (br, 1H, -OH), 2.10 (ddd, $J_{\text{H2'}\alpha,\text{H2'}\beta} = 13.1$, $J_{\text{H1'},\text{H2'}} = 10.2$, $J_{\text{H3'},\text{H2'}} = 6.0$, 1H, H2'). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 158.3 (C_q, DMT), 144.8 (C_q, DMT), 141.6 (C_q), 137.8 (C_q), 135.9 (C_q, DMT), 130.0, 128.1, 128.1, 127.7, 126.7, 126.6, 123.0, 113.0 (CH, DMT), 86.2, 86.1 (DMT, C4'), 79.9 (C1'), 74.6 (C3'), 64.4 (C5'), 55.1 (OCH₃, DMT), 43.8 (C2'), 21.3 (Ar-CH₃). HRMS(ESI): m/z C₃₃H₃₄O₅Na⁺ ber. 533.2304 (M+Na⁺), gef. 533.2298. R_f: 0.26 (Cyclohexan:Ethylacetat = 2:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-1',2'-dideoxy-1'-(2-biphenyl)ribofuranose **146j**

Das 5'-DMT-geschützte Nukleosid **146j** (C₃₈H₃₆O₅, M = 572.69 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 9 aus 1',2'-Dideoxy-1'-(2-biphenyl)ribofuranose **93** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 72 % Ausbeute (76 mg, 0.13 mmol) isoliert.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 7.74 (dd, $J = 7.5$, $J = 1.5$, 1H, H3), 7.54 – 7.49 (m, 2H), 7.46 – 7.20 (m, 15H), 6.89 (d, $J = 8.9$, 4H, DMT), 5.22 (dd, $J_{\text{H1'},\text{H2'}} = 9.1$, $J_{\text{H1'},\text{H2'}} = 6.6$, 1H, H1'), 4.40 – 4.32 (m, 1H, H3'), 3.96 – 3.90 (m, 1H, H4'), 3.82 (s, 6H, Ar-OCH₃), 3.41 (dd, $J = 9.7$, $J = 4.6$, 1H, H5'), 3.34 (dd, $J = 9.7$, $J = 5.2$, 1H, H5'), 2.13 – 1.98 (m, 2H, H2'), 1.76 (br, 1H, -OH). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 158.4 (C_q, DMT), 144.8 (C_q, DMT), 140.8 (C_q), 139.3 (C_q), 135.9 (C_q, DMT), 130.0, 129.7, 129.1, 128.1, 128.0, 127.8, 127.6, 127.0, 126.7, 126.0, 113.0 (CH, DMT), 86.2, 85.6 (DMT, C4'), 76.8 (C1'), 74.6 (C3'), 64.3 (C5'), 55.1 (OCH₃, DMT), 44.1 (C2'). HRMS(ESI): m/z C₃₈H₃₆O₅Na⁺ ber. 595.2455 (M+Na⁺), gef. 595.2468. R_f: 0.30 (Cyclohexan:Ethylacetat = 2:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-1',2'-dideoxy-1'-(3-biphenyl)ribofuranose 146k

Das 5'-DMT-geschütztes Nukleosid **146k** ($C_{38}H_{36}O_5$, $M = 572.69 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) wurde entsprechend Vorschrift 9 aus 1',2'-Dideoxy-1'-(3-biphenyl)ribofuranose **94** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 70 % Ausbeute (162 mg, 0.30 mmol) isoliert.

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 7.70$ (s, 1H, H2), 7.60-7.51 (m, 5H), 7.47-7.20 (m, 12H), 6.83 (d, $J = 8.9$, 4H, DMT), 5.30 (dd, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 10.2$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 5.5$, 1H, H1'), 4.51-4.47 (m, 1H, H3'), 4.16 (td, $J_{\text{H4}',\text{H5}'} = 4.6$, $J_{\text{H3}',\text{H4}'} = 2.6$, 1H, H4'), 3.78 (s, 6H, Ar-OCH₃), 3.43 – 3.33 (m, 2H, H5'), 2.34 (ddd, $J_{\text{H2}',\alpha,\text{H2}'\beta} = 13.0$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 5.6$, $J_{\text{H3}',\text{H2}'} = 1.7$, 1H, H2'), 2.16 (ddd, $J_{\text{H2}',\alpha,\text{H2}'\beta} = 13.0$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 10.2$, $J_{\text{H3}',\text{H2}'} = 5.9$, 1H, H2'). ^{13}C -NMR (75.5 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 158.3$ (C_q, DMT), 144.8 (C_q, DMT), 142.4 (C_q), 141.2 (C_q), 141.0 (C_q), 135.9 (C_q, DMT), 130.0, 128.6, 128.6, 128.1, 127.7, 127.1, 126.7, 126.2, 124.9, 124.7, 113.0 (CH, DMT), 86.4, 86.1 (DMT, C4'), 79.9 (C1'), 74.5 (C3'), 64.4 (C5'), 55.1 (OCH₃, DMT), 43.9 (C2'). MS(ESI): m/z $C_{38}H_{36}O_5\text{Na}^+$ ber. 595.2 ($M + \text{Na}^+$), gef. 595.3. R_f: 0.26 (Cyclohexan:Ethylacetat = 2:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-β-1',2'-dideoxy-1'-(1-phenanthrenyl)ribofuranose 146l

Das 5'-DMT-geschütztes Nukleosid **146l** ($C_{40}H_{36}O_5$, $M = 596.71 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) wurde entsprechend Vorschrift 9 aus β-1',2'-Dideoxy-1'-(1-phenanthrenyl)ribofuranose **82** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 63 % Ausbeute (115 mg, 0.19 mmol) isoliert.

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 8.75$ (d, $J = 8.3$, 1H), 8.71 (d, $J = 8.5$, 1H), 8.07 (d, $J = 9.2$, 1H), 7.97 (d, $J = 7.3$, 1H), 7.91 (d, $J = 7.6$, 1H), 7.78 – 7.58 (m, 6H), 7.49 – 7.28 (m, 7H), 6.80 (d, $J = 8.9$, 4H), 6.04 (dd, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 9.5$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 5.9$, 1H, H1'), 4.57 – 4.51 (m, 1H, H3'), 4.29 – 4.25 (m, 1H, H4'), 3.80 (s, 6H, Ar-OCH₃), 3.54 (dd, $J = 9.8$, $J = 4.6$, 1H, H5'), 3.48 (dd, $J = 9.8$, $J = 5.0$, 1H, H5'), 2.69 – 2.55 (m, 1H, H2'), 2.21 (ddd, $J_{\text{H2}',\alpha,\text{H2}'\beta} = 13.1$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 9.7$, $J_{\text{H3}',\text{H2}'} = 6.3$, 1H, H2'). ^{13}C -NMR (75.5 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 158.3$ (C_q, DMT), 144.8 (C_q, DMT), 138.3 (C_q), 135.9 (C_q, DMT), 131.3 (C_q), 130.4 (C_q), 130.2 (C_q), 130.0, 128.7, 128.3, 128.1, 127.7, 126.9, 126.7, 126.5, 126.4, 126.1, 123.0, 122.8, 122.0, 121.9, 113.0 (CH, DMT), 86.1, 85.8 (DMT, C4'), 77.1 (C1'), 74.1 (C3'), 64.2 (C5'), 55.0

(OCH₃, DMT), 43.0 (C2'). HRMS(ESI): m/z C₄₀H₃₆O₅Na⁺ ber. 619.2455 (M+Na⁺), gef. 619.2463. R_f: 0.16 (Cyclohexan:Ethylacetat = 2:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-β-1',2'-didesoxy-1'-(3-phenanthrenyl)ribofuranose **146m**

Das 5'-DMT-geschützte Nukleosid **146m** (C₄₀H₃₆O₅, M = 596.71 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 9 aus β-1',2'-Didesoxy-1'-(3-phenanthrenyl)ribofuranose **87** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 89 % Ausbeute (417 mg, 0.70 mmol) isoliert.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 8.79 (s, 1H, H4), 8.6 (d, $J = 7.7$, 1H, H5), 7.92 – 7.88 (m, 2H, H1, H8), 7.76 (s, 2H, H9, H10), 7.67 – 7.55 (m, 5H, H2, H6, H7, DMT), 7.48 – 7.42 (m, 4H, DMT), 7.35 – 7.22 (m, 3H, DMT), 6.85 (d, $J = 8.9$, 4H, DMT), 5.54 (dd, $J_{H1',H2'} = 10.1$, $J_{H1',H2'} = 5.6$, 1H, H1'), 4.57 – 4.53 (m, 1H, H3'), 4.23 (td, 1H, $J_{H4',H5'} = 4.6$, $J_{H3',H4'} = 2.6$, H4'), 3.76 (s, 6H, Ar-OCH₃), 3.47 (d, $J = 4.7$, 2H, H5'), 2.43 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta} = 13.1$, $J_{H1',H2'} = 5.6$, $J_{H3',H2'} = 1.9$, 1H, H2'), 2.32 – 2.15 (m, 2H, H2', -OH). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 158.3 (C_q, DMT), 144.8 (C_q, DMT), 140.0 (C_q; C3), 136.0 (C_q, DMT), 132.0 (C_q), 131.4 (C_q), 130.1 (C_q), 130.0, 128.6, 128.4, 128.1, 127.8, 126.7, 126.5, 126.4, 126.4, 124.6, 122.7 (C5), 119.8 (C4), 113.1 (CH, DMT), 86.5, 86.2 (DMT, C4'), 80.4 (C1'), 74.7 (C3'), 64.4 (C5'), 55.1 (OCH₃, DMT), 44.2 (C2'). HRMS(ESI): m/z C₄₀H₃₆O₅Na⁺ ber. 619.2455 (M+Na⁺), gef. 619.2460. R_f: 0.10 (Cyclohexan:Ethylacetat = 2:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-β-1'',2''-didesoxy-1''-(*R,S*-[1,1']binaphthylen-4-yl)ribofuranose **146n**

Das 5'-DMT-geschützte Nukleosid **146n** (C₄₆H₄₀O₅, M = 672.81 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 9 aus β-1'',2''-Didesoxy-1''-(*R,S*-[1,1']-binaphthylen-4-yl)ribofuranose **84** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 75 % Ausbeute (214 mg, 0.32 mmol) isoliert.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 8.24 – 8.19 (m, 1H), 8.01 – 7.90 (m, 3H), 7.66 – 7.22 (m, 18H), 6.87 (m, 4H), 6.10 – 6.03 (m, 1H, H1'), 4.63 – 4.56 (m, 1H, H3'), 4.32 – 4.26 (m, 1H, H4'), 3.81 (dd, $J = 3.8$, $J = 0.8$, 6H, Ar-OCH₃), 3.59 – 3.45 (m, 2H, H5'), 2.70 – 2.61 (m, 1H, H2'), 2.41 – 2.26 (m, 2H, H2', -OH). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 158.4 (C_q, DMT), 144.8 (C_q, DMT), 138.5 (C_q), 138.0 (C_q), 137.5 (C_q), 137.4 (C_q), 136.0 (C_q, DMT),

135.9 (C_q, DMT), 133.4 (C_q), 132.9 (C_q), 132.8 (C_q), 130.4 (C_q), 130.1 (CH, DMT), 130.0 (CH, DMT), 128.1, 128.1, 128.0, 127.9, 127.8, 127.6, 127.5, 127.3, 126.7, 126.6, 126.5, 125.9, 125.8, 125.8, 125.7, 125.7, 125.5, 125.3, 125.2, 123.5, 123.4, 121.8, 121.8, 113.1 (CH, DMT), 86.2, 85.7 (DMT, C4'), 77.2 (C1'), 77.0 (C1'), 74.4 (C3'), 64.3 (C5'), 55.1 (OCH₃, DMT), 42.8 (C2'), 42.8 (C2'). HRMS(ESI): m/z C₄₆H₄₀O₅Na⁺ ber. 695.2773 (M+Na⁺), gef. 695.2774. R_f: 0.32 (Cyclohexan:Ethylacetat = 2:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-β-1',2'-dideoxy-1'-(2-(7-phenyl)naphthyl)ribofuranose **146o**

Das 5'-DMT-geschütztes Nukleosid **146o** (C₄₂H₃₈O₅, M = 622.75 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 9 aus β-1',2'-Dideoxy-1'-(2-(7-phenyl)naphthyl)ribofuranose **88** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 61 % Ausbeute (116 mg, 0.19 mmol) isoliert.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 7.99 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.91 (d, J = 8.7, 1H), 7.84 (d, J = 8.5, 1H), 7.76 – 7.70 (m, 3H), 7.54 – 7.20 (m, 12H), 6.84 (d, J = 8.9, 4H), 5.39 (dd, $J_{H1',H2'} = 10.0$, $J_{H1',H2'} = 5.6$, 1H, H1'), 4.49 (br, 1H, H3'), 4.17 (td, 1H, $J_{H4',H5'} = 4.8$, $J_{H3',H4'} = 2.7$, H4'), 3.76 (s, 6H, Ar-OCH₃), 3.44 (dd, J = 9.8, J = 4.6, 1H, H5'), 3.37 (dd, J = 9.8, J = 5.2, 1H, H5'), 2.36 (ddd, $J_{H2',H2'\beta} = 13.1$, $J_{H1',H2'} = 5.8$, $J_{H3',H2'} = 2.1$, 1H, H2'), 2.19 (ddd, $J_{H2',H2'\beta} = 13.1$, $J_{H1',H2'} = 10.0$, $J_{H3',H2'} = 6.0$, 1H, H2'), 2.08 (br, 1H, -OH). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 158.5 (C_q, DMT), 144.9 (C_q, DMT), 141.0 (C_q), 139.9 (C_q), 138.7 (C_q), 136.0 (C_q, DMT), 133.5 (C_q), 132.1 (C_q), 130.1, 128.8, 128.2, 128.2, 127.9, 127.4, 127.3, 126.8, 125.8, 125.5, 124.9, 124.3, 113.1 (CH, DMT), 86.4, 86.3 (DMT, C4'), 80.1 (C1'), 74.7 (C3'), 64.6 (C5'), 55.2 (OCH₃, DMT), 43.9 (C2'). HRMS(ESI): m/z C₄₂H₃₈O₅Na⁺ ber. 645.2617 (M+Na⁺), gef. 645.2620. R_f: 0.30 (Cyclohexan:Ethylacetat = 2:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-β-1',2'-dideoxy-1'-(2-(7-methyl)naphthyl)ribofuranose **146p**

Das 5'-DMT-geschütztes Nukleosid **146p** (C₃₇H₃₆O₅, M = 560.68 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 9 aus β-1',2'-Dideoxy-1'-(2-(7-methyl)naphthyl)ribofuranose **89** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 68 % Ausbeute (95 mg, 0.17 mmol) isoliert.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 7.77 (s, 1H), 7.74 (d, J = 8.5, 1H), 7.71 (d, J = 8.4, 1H), 7.52 – 7.49 (m, 3H), 7.42 – 7.36 (m, 5H), 7.30 – 7.19 (m, 4H), 6.81 (d, J = 8.9, 4H,

DMT), 5.33 (dd, $J_{H1',H2'} = 9.9$, $J_{H1',H2'} = 5.7$, 1H, H1'), 4.47 – 4.44 (m, 1H, H3'), 4.12 (td, 1H, $J_{H4',H5'} = 4.7$, $J_{H3',H4'} = 2.8$, H4'), 3.76 (s, 6H, Ar-OCH₃), 3.40 (dd, $J = 9.8$, $J = 4.5$, 1H, H5'), 3.33 (dd, $J = 9.8$, $J = 5.2$, 1H, H5'), 2.48 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.30 (ddd, $J_{H2',\alpha,H2'\beta} = 13.1$, $J_{H1',H2'} = 5.7$, $J_{H3',H2'} = 2.1$, 1H, H2'), 2.14 (ddd, $J_{H2',\alpha,H2'\beta} = 13.1$, $J_{H1',H2'} = 10.0$, $J_{H3',H2'} = 6.1$, 1H, H2'), 1.99 (br, 1H, -OH). ¹³C-NMR (100.6 MHz, CDCl₃, 25°C): $\delta = 158.4$ (C_q, DMT), 144.8 (C_q, DMT), 139.2 (C_q), 136.0 (C_q, DMT), 135.6 (C_q), 133.4 (C_q), 131.1 (C_q), 130.0 (CH, DMT), 128.1 (CH, DMT), 127.9, 127.8 (CH, DMT), 127.7, 127.4, 126.8, 126.7, 124.0 (CH, Ar), 123.2 (CH, Ar), 113.1 (CH, DMT), 86.3, 86.2 (DMT, C4'), 80.1 (C1'), 74.6 (C3'), 64.5 (C5'), 55.1 (OCH₃, DMT), 43.8 (C2'), 21.6 (Ar-CH₃). HRMS(ESI): m/z C₃₇H₃₆O₅Na⁺ ber. 583.2455 (M+Na⁺), gef. 583.2461. R_f: 0.22 (Cyclohexan:Ethylacetat = 2:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(2-naphthyl)ribofuranose **146s**

Das 5'-DMT-geschütztes Nukleosid **146s** (C₃₆H₃₄O₅, M = 546.65 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 9 aus β -1',2'-Dideoxy-1'-(2-naphthyl)ribofuranose **91** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 84 % Ausbeute (317 mg, 0.58 mmol) isoliert.

MS(ESI): m/z C₃₆H₃₄O₅Na⁺ ber. 569.2 (M+Na⁺), gef. 569.2. R_f: 0.36 (Cyclohexan:Ethylacetat = 2:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(1-indolyl)ribofuranose **146t**

Das 5'-DMT-geschütztes Nukleosid **146t** (C₃₄H₃₃NO₅, M = 535.63 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 9 aus β -1',2'-Dideoxy-1'-(1-indolyl)ribofuranose **98** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 58 % Ausbeute (165 mg, 0.31 mmol) isoliert.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): $\delta = 7.67 - 7.63$ (m, 1H) und 7.55 (d, $J = 8.2$, 1H, H4, H7), 7.50 – 7.46 (m, 2H), 7.38 – 7.14 (m, 12H), 6.86 – 6.81 (m, 4H, DMT), 6.55 (d, $J = 3.4$, 1H, H3), 6.44 (dd, $J_{H1',H2'} = 6.7$, $J_{H1',H2'} = 6.7$, 1H, H1'), 4.60 (ddd, $J_{H3',H2'\beta} = 6.8$, $J_{H3',H2'} = 3.4$, $J_{H3',H4'} = 3.4$, 1H, H3'), 4.11 – 4.07 (m, 1H, H4'), 3.81 (s, 3H, Ar-OCH₃), 3.81 (s, 3H, Ar-OCH₃), 3.41 (dd, $J_{\text{gem.}} = 10.0$, $J_{H4',H5'} = 4.4$, 1H, H5'), 3.35 (dd, $J_{\text{gem.}} = 10.0$, $J_{H4',H5'} = 5.0$, 1H, H5'), 2.65 (ddd, $J_{H2'\beta,H2'\alpha} = 13.6$, $J_{H3',H2'} = 6.8$, $J_{H1',H2'} = 6.8$, 1H, H2'), 2.39 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta} = 13.5$, $J_{H1',H2'} = 6.0$, $J_{H3',H2'} = 3.8$, 1H, H2'), 2.26 (br, 1H, -OH). ¹³C-NMR (75.5

MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 158.4 (C_q, DMT), 144.6 (C_q, DMT), 135.9 (C_q, C8), 135.7 (C_q, DMT), 135.6 (C_q, DMT), 130.0 (CH, DMT), 129.0 (C_q, C9), 128.1 (CH, DMT), 127.8 (CH, DMT), 126.8 (CH, DMT), 124.0 (C2), 121.9 (CH, Indol), 120.8 (CH, Indol), 120.0 (CH, Indol), 113.1 (CH, DMT), 110.0 (C7), 102.9 (C3), 86.4, 84.8, 84.7 (DMT, C1',C4'), 72.6 (C3'), 63.9 (C5'), 55.1 (OCH₃, DMT), 39.9 (C2'). MS(ESI): m/z C₃₄H₃₃NO₅Na⁺ ber. 558.2 (M+Na⁺), gef. 558.2. R_f: 0.20 (Cyclohexan:Ethylacetat = 2:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(4-biphenyl)ribofuranose **146u**

Das 5'-DMT-geschütztes Nukleosid **146u** (C₃₈H₃₆O₅, M = 572.69 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 9 aus β -1',2'-Dideoxy-1'-(4-biphenyl)ribofuranose **95** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 86 % Ausbeute (399 mg, 0.70 mmol) isoliert

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 7.66 – 7.24 (m, 18H), 6.89 (d, J = 8.8, 4H, DMT), 5.29 (dd, $J_{H1',H2'}$ = 10.1, $J_{H1',H2'}$ = 5.5, 1H, H1'), 4.52 – 4.46 (m, 1H, H3'), 4.19 – 4.14 (m, 1H, H4'), 3.82 (s, 6H, Ar-OCH₃), 3.44 (dd, J = 9.8, J = 4.6, 1H, H5'), 3.37 (dd, J = 9.8, J = 5.2, 1H, H5'), 2.33 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta}$ = 13.1, $J_{H1',H2'}$ = 5.6, $J_{H3',H2'}$ = 1.75, 1H, H2'), 2.27 (br, 1H, OH), 2.14 (ddd, $J_{H2'\alpha,H2'\beta}$ = 13.1, $J_{H1',H2'}$ = 10.2, $J_{H3',H2'}$ = 5.9, 1H, H2'). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 158.3 (C_q, DMT), 144.7 (C_q), 140.7 (C_q), 140.3 (C_q), 135.9 (C_q, DMT), 130.0 (CH, DMT), 128.6, 128.1, 127.7, 127.1, 126.9, 126.7, 126.4, 113.0 (CH, DMT), 86.3, 86.1 (DMT, C4'), 79.7 (C1'), 74.5 (C3'), 64.4 (C5'), 55.1 (OCH₃, DMT), 43.7 (C2'). MS(ESI): m/z C₃₈H₃₆O₅Na⁺ ber. 595.3 (M+Na⁺), gef. 595.3. R_f: 0.24 (Cyclohexan:Ethylacetat = 2:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-phenyloxoribofuranose **146v**

Das 5'-DMT-geschütztes Nukleosid **146v** (C₃₂H₃₂O₆, M = 512.59 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 9 aus β -1',2'-Dideoxy-1'-phenyloxoribofuranose **97** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 68 % Ausbeute (145 mg, 0.28 mmol) isoliert.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 7.46 – 7.43 (m, 2H, Ar), 7.35 – 7.20 (m, 9H, Ar), 7.07-6.99 (m, 3H, -OPh), 6.77 – 6.72 (m, 4H, DMT), 5.92 (dd, $J_{H1',H2'}$ = 5.4, $J_{H1',H2'}$ = 2.1, 1H, H1'), 4.59 (ddd, $J_{H3',H2'}$ = 6.7, $J_{H3',H2'}$ = 6.7, $J_{H3',H4'}$ = 4.9, 1H, H3'), 4.10 (td, $J_{H4',H5'}$ =

5.3, $J_{\text{H3}',\text{H4}'} = 5.3$, 1H, H4'), 3.78 (s, 3H, Ar-OCH₃), 3.77 (s, 3H, Ar-OCH₃), 3.31 (dd, $J_{\text{gem.}} = 9.8$, $J_{\text{H4}',\text{H5}'} = 5.5$, 1H, H5'), 3.21 (dd, $J_{\text{gem.}} = 9.8$, $J_{\text{H4}',\text{H5}'} = 5.5$, 1H, H5'), 2.54 (ddd, $J_{\text{H2}'\alpha,\text{H2}'\beta} = 13.4$, $J_{\text{H3}',\text{H2}'} = 6.7$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 2.1$, 1H, H2'), 2.30 (ddd, $J_{\text{H2}'\alpha,\text{H2}'\beta} = 13.4$, $J_{\text{H3}',\text{H2}'} = 6.7$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 5.0$, 1H, H2'), 2.03 (br, 1H, -OH). ¹³C-NMR: (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): $\delta = 158.3$ (C_q, DMT), 158.3 (C_q, DMT), 157.1 (C_q, -OPh), 144.8 (C_q, DMT), 135.9 (C_q, DMT), 135.8 (C_q, DMT), 130.0 (CH, DMT), 129.9 (CH, DMT), 129.3 (CH, -OPh), 128.0 (CH, DMT), 127.7 (CH, DMT), 126.6 (CH, DMT), 121.5 (CH, -OPh), 116.2 (CH, -OPh), 113.0 (CH, DMT), 101.9 (C1'), 86.0, 85.6 (C4', DMT), 72.6 (C3'), 64.6 (C5'), 55.1 (OCH₃, DMT), 41.3 (C2'). HRMS(ESI): m/z C₃₂H₃₂O₆Na⁺ ber. 535.2091 (M+Na⁺), gef. 535.2098. R_f: 0.23 (Cyclohexan:Ethylacetat 2:1).

Phosphoramidite

Vorschrift 10: Das 5'-DMT-geschütztem Nukleosid **146bβ** (83 mg; 0.124 mmol) wurde in trockenem Dichlormethan (3 ml) gelöst. Anschließend wurden Benzylmercaptotetrazol (30 mg) und Bis(diisopropylamino)cyanethoxyphosphin (50 μ l, 0.157 mmol, 1.3 eq.) hinzugefügt und für 1 h gerührt. Es wurde DIPEA hinzugegeben und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Reinigung des Rohproduktes mittels Flash-Chromatographie über Kieselgel (Cyclohexan: Ethylacetat = 19:1→9:1; 2 % Dimethylethylamin) ergab 70 mg (65 %, 0.81 mmol) des reinen Phosphoramidites **147bβ** als farblosen Schaum.

Vorschrift 11: Das 5'-DMT-geschütztem Nukleosid **146e** (70 mg; 0.124 mmol) wurde in trockenem Dichlormethan (3 ml) gelöst. Anschließend wurden 0.45 M Tetrazol-Lösung in Acetonitril (0.5 ml) und Bis(diisopropylamino)cyanethoxyphosphin (46 μ l, 0.146 mmol, 1.3 eq.) hinzugefügt und für 1 h gerührt. Anschließend wurde DIPEA hinzugegeben und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Reinigung des Rohproduktes mittels Flash-Chromatographie über Kieselgel (Cyclohexan: Ethylacetat = 19:1→9:1; 2 % Dimethylethylamin) ergab 75 mg (80 %, 0.10 mmol) des reinen Phosphoramidites **147bβ** als farblosen Schaum.

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(4-triisopropylsilyloxyphenyl)ribofuranose-3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-N,N'-diisopropylphosphoramidit] **147b β**

Die Synthese von **147b β** (C₅₀H₆₉N₂O₆PSi, M = 869.15 g·mol⁻¹) wird in Vorschrift 10 beschrieben.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 7.55 – 7.19 (m, 11H), 6.89 – 6.82 (m, 6H), 5.17 – 5.10 (m, 1H, H1'), 4.60 – 4.52 (m, 1H, H3'), 4.26 – 4.21 (m, 1H), 3.92 – 3.54 (m, 12H), 3.38 – 3.23 (m, 2H), 2.66 – 2.60 (m, 1H), 2.51 – 2.28 (m, 2H), 2.12 – 2.01 (m, 1H), 1.31 – 1.10 (m, 33H). ¹³C-NMR: (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 158.3 (C_q, DMT), 158.3 (C_q, DMT), 155.5 (C_q, OPh), 155.5 (C_q, OPh), 144.9 (C_q, DMT), 144.8 (C_q, DMT), 136.1 (C_q), 136.0 (C_q), 136.0 (C_q), 133.6 (C_q), 130.1, 130.0, 129.0, 128.2, 128.2, 127.7, 127.3, 127.3, 126.6, 126.6, 119.6 (CH, OPh), 119.5 (CH, OPh), 117.4 (-CN), 117.4 (-CN), 113.0 (CH, DMT), 86.0, 85.8, 85.8, 85.5, 85.4, 80.1, 80.1 (DMT, C1', C4'), 76.3, 76.1, 75.9, 75.7 (C3'), 64.2 (C5'), 64.1 (C5'), 58.3 (-CH₂CH₂-CN), 58.1 (-CH₂CH₂-CN), 55.1 (OCH₃, DMT), 43.2, 43.1, 43.0, 43.0, 24.6, 24.5, 24.4, 24.3 (CH₃, *i*Pr), 20.3, 20.2, 20.1, 20.0 (-CH₂-CN), 17.8 (CH₃, *i*Pr), 12.6 (CH, *i*Pr). ³¹P-NMR: (121.5 MHz, CDCl₃): δ = 148.6, 148.3. HRMS(ESI): *m/z* C₅₀H₆₉N₂O₆PSiNa⁺ ber. 891.5409 (M+Na⁺), gef. 891.5415. R_F-Wert: 0.32 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- α -1',2'-dideoxy-1'-(4-triisopropylsilyloxyphenyl)ribofuranose -3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-N,N'-diisopropylphosphoramidit] **147ba**

Das Phosphoramidit **147ba** (C₅₀H₆₉N₂O₆PSi, M = 869.15 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 10 aus dem 5'-DMT-geschützten Nukleosid **146ba** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 71 % Ausbeute (120 mg, 0.14 mmol) isoliert.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 7.55 – 7.19 (m, 11H), 6.91 – 6.84 (m, 6H), 5.20 – 5.11 (m, 1H, H1'), 4.70 – 4.55 (m, 1H, H3'), 4.38 – 4.33 (m, 1H), 3.82 – 3.50 (m, 12H), 3.41 – 3.30 (m, 1H), 3.24 – 3.17 (m, 1H), 2.77 – 2.51 (m, 2H), 2.44 – 2.39 (m, 1H), 2.21 – 2.06 (m, 1H), 1.31 – 1.06 (m, 33H). ¹³C-NMR: (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 158.3 (C_q, DMT), 155.4 (C_q, OPh), 155.3 (C_q, OPh), 144.9 (C_q, DMT), 136.1 (C_q), 136.1 (C_q), 136.0 (C_q), 135.0 (C_q), 134.8 (C_q), 130.1, 130.1, 130.0, 129.0, 128.2, 128.2, 127.7, 127.7, 127.3, 127.2, 126.6, 126.6, 119.5 (CH, OPh), 119.4 (CH, OPh), 117.5 (-CN), 117.4 (-CN), 113.0 (CH, DMT), 86.0, 84.5, 84.4, 84.4, 79.9 (DMT, C1', C4'), 75.7, 75.4, 75.3, 75.1 (C3'), 64.2 (C5'), 64.0 (C5'), 58.3,

58.1, 58.0, 57.9 (alle -CH₂CH₂-CN), 55.1 (OCH₃, DMT), 55.1 (OCH₃, DMT), 43.1, 43.0, 43.0, 42.9, 42.5, 24.6, 24.5, 24.5, 24.4, 24.4, 24.3 (CH₃, *i*Pr), 20.2, 20.1, 20.1, 20.0 (-CH₂-CN), 17.8 (CH₃, *i*Pr), 12.6 (CH, *i*Pr). ³¹P-NMR: (121.5 MHz, CDCl₃): δ = 148.9, 148.4. HRMS(ESI): *m/z* C₅₀H₆₉N₂O₆PSiNa⁺ ber. 891.5409 (M+Na⁺), gef. 891.5417. R_f: 0.36 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-β-1',2'-dideoxy-1'-(3-indolyl)ribofuranose-3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-N,N'-diisopropylphosphoramidit] 147c

Das Phosphoramidit **147c** (C₄₃H₅₀N₃O₆P, M = 735.85 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 10 aus dem 5'-DMT-geschützten Nukleosid **146c** synthetisiert. Nach der säulen-chromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 64 % Ausbeute (48 mg, 0.05 mmol) isoliert. Das Produkt liegt als Gemisch beider Diastereomere im mittels ¹H-NMR bestimmten Verhältnis β:α = 3:1 vor. Daher können im ³¹P-NMR-Spektrum 3 Peaks beobachtet werden. Die Peaks bei 32 ppm weisen auf nicht reaktive Phosphonatverunreinigungen hin.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 8.30 (s, 0.25H, NH), 8.24 (s, 0.75H, NH), 7.86 (d, *J* = 7.5, 0.25H, H7), 7.78 (d, *J* = 8.0, 0.75H, H7), 7.56 – 7.18 (m, 12H), 7.05 – 6.99 (m, 1H), 6.89 – 6.76 (m, 4H, DMT), 5.63 – 5.47 (m, 1H, H1'), 4.80 – 4.63 (m, 1H, H3'), 4.38 – 4.34 (m, 0.25H), 4.31 – 4.26 (m, 0.75H), 3.94 – 3.20 (m, 14H), 2.80 – 2.36 (m, 4H), 1.36 – 1.04 (m, 12H). ¹³C-NMR: (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 158.3 (C_q, DMT), 144.9 (C_q, DMT), 144.9 (C_q, DMT), 136.5, 136.2, 136.1, 136.0, 136.0, 130.1, 130.1, 128.3, 128.2, 127.7, 127.6, 126.6, 126.6, 126.0, 125.9, 125.8, 122.1, 122.0, 122.0, 121.8, 121.8, 120.0, 119.9, 119.5, 119.5, 119.5, 119.4, 117.7, 117.5, 117.5, 117.2, 116.9, 116.2, 116.1, 113.0, 112.9 (CH, DMT), 111.2, 111.1, 111.1, 111.1 (C7), 86.0, 85.9, 85.5, 85.4, 85.2, 85.1 (DMT, C4'), 76.3, 76.1, 75.9, 75.6, 74.8, 74.7, 74.3, 74.2 (C1', C3'), 64.2, 64.1 (C5'), 58.4, 58.3, 58.1, 58.1 (-CH₂CH₂-CN), 55.1 (OCH₃, DMT), 43.2, 43.1, 43.0, 43.0, 41.1, 41.1, 24.6, 24.5, 24.4, 24.3 (CH₃, *i*Pr), 20.3, 20.2, 20.2, 20.1 (-CH₂-CN). ³¹P-NMR: (121.5 MHz, CDCl₃): δ = 148.8, 148.7, 148.4. HRMS(ESI): *m/z* C₄₃H₅₀N₃O₆PNa⁺ ber. 758.3329 (M+Na⁺), gef. 758.3338. R_f: 0.30 (Cyclohexan:Ethylacetat = 2:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(2-fluorenyl)ribofuranose-3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-N,N'-diisopropylphosphoramidit] 147e

Das Phosphoramidit **147e** ($C_{48}H_{53}N_2O_6P$, $M = 784.92 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) wurde, wie in Vorschrift 11 beschrieben, synthetisiert.

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 7.77$ (d, $J = 7.5$, 1H, Ar), 7.74 (d, $J = 7.9$, 1H, Ar), 7.66 (s, 1H, H1), $7.53 - 7.49$ (m, 3H), $7.44 - 7.34$ (m, 6H), $7.30 - 7.18$ (m, 4H), $6.84 - 6.79$ (m, 4H, DMT), $5.28 - 5.22$ (m, 1H, H1'), $4.59 - 4.54$ (m, 1H, H3'), $4.25 - 4.29$ (m, 1H), $3.90 - 3.56$ (m, 12H), $3.41 - 3.33$ (m, 1H), $3.31 - 3.26$ (m, 1H), $2.64 - 2.60$ (m, 1H), $2.48 - 2.36$ (m, 2H), $2.18 - 2.07$ (m, 1H), $1.20 - 1.09$ (m, 12H). ^{13}C -NMR (100.6 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 158.3$ (C_q , DMT), 144.9 (C_q), 144.8 (C_q), 143.4 (C_q), 143.3 (C_q), 143.3 (C_q), 141.5 (C_q), 141.4 (C_q), 141.1 (C_q), 141.1 (C_q), 140.3 (C_q), 136.1 (C_q , DMT), 136.0 (C_q , DMT), 136.0 (C_q , DMT), 130.1 (CH, DMT), 130.1 (CH, DMT), 128.2 (CH, DMT), 128.2 (CH, DMT), 127.7 (CH, DMT), 126.7 , 126.6 , 126.5 , 126.5 , 124.9 , 124.8 , 122.7 , 122.7 , 119.7 , 119.6 , 117.5 (-CN), 117.4 (-CN), 113.0 (CH, DMT), 86.1 , 86.0 , 86.0 , 85.7 , 85.6 (DMT, C4'), 80.6 , 80.5 (C1'), 76.3 , 76.2 , 75.9 , 75.8 (C3'), 64.2 (C5'), 64.1 (C5'), 58.3 (-CH₂CH₂-CN), 58.1 (-CH₂CH₂-CN), 55.1 (OCH₃, DMT), 43.5 (C2'), 43.2 , 43.1 , 43.1 , 43.0 (CH, *i*Pr), 36.8 (CH₂, Fluoren), 24.6 , 24.6 , 24.5 , 24.5 , 24.4 , 24.4 (CH₃, *i*Pr), 20.3 , 20.2 , 20.2 , 20.1 (-CH₂-CN). ^{31}P -NMR: (162 MHz, CDCl_3): $\delta = 148.6$, 148.4 . HRMS(ESI): m/z $C_{48}H_{53}N_2O_6PNa^+$ ber. 807.3539 ($M+Na^+$), gef. 807.3550 . R_f : 0.26 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(1-(4-methyl)naphthyl)ribofuranose-3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-N,N'-diisopropylphosphoramidit] 147g

Das Phosphoramidit **147g** ($C_{46}H_{53}N_2O_6P$, $M = 760.90 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) wurde entsprechend Vorschrift 11 aus dem 5'-DMT-geschützten Nukleosid **146g** synthetisiert. Nach der säulen-chromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 53 % Ausbeute (50 mg, 0.07 mmol) isoliert.

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 8.18 - 8.13$ (m, 1H), $8.09 - 8.05$ (m, 1H), $7.74 - 7.69$ (m, 1H), $7.59 - 7.19$ (m, 13H), $6.89 - 6.82$ (m, 5H), $5.94 - 5.86$ (m, 1H, H1'), $4.69 - 4.58$ (m, 1H, H3'), $4.38 - 4.33$ (m, 1H), $3.86 - 3.61$ (m, 12H), $3.48 - 3.34$ (m, 2H), $2.73 - 2.56$ (m, 5H), $2.53 - 2.48$ (m, 1H), $2.24 - 2.13$ (m, 1H), $1.25 - 1.13$ (m, 12H). ^{13}C -NMR: (75.5 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 158.3$ (C_q , DMT), 144.9 (C_q , DMT), 144.8 (C_q , DMT), 136.0 (C_q), 135.6

(C_q), 133.7 (C_q), 133.7 (C_q), 132.6 (C_q), 130.6 (C_q), 130.6 (C_q), 130.1, 129.0, 128.3, 128.2, 127.8, 127.7, 127.0, 126.7, 126.6, 126.3, 126.2, 125.6, 125.5, 125.3, 124.7, 124.7, 123.9, 122.1, 117.4 (-CN), 113.0 (CH, DMT), 86.0, 86.0, 85.3, 85.3, 85.0, 85.0 (DMT, C4'), 76.0, 75.8, 75.5, 75.3 (C3'), 63.9 (C5'), 63.8 (C5'), 58.4, 58.4, 58.1, 58.1 (-CH₂CH₂-CN), 55.1 (OCH₃, DMT), 43.2, 43.2, 43.1, 43.0 (CH, *i*Pr), 42.2 (C2'), 24.6, 24.5, 24.4 (CH₃, *i*Pr), 20.3, 20.2, 20.2, 20.1 (-CH₂-CN), 19.5 (Ar-CH₃). ³¹P-NMR: (121.5 MHz, CDCl₃): δ = 148.9, 148.5. HRMS(ESI): *m/z* C₄₆H₅₃N₂O₆PNa⁺ ber. 783.3539 (M+Na⁺), gef. 783.3533. R_f: 0.27 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-β-1',2'-dideoxy-1'-(3-tolyl)ribofuranose-3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-N,N'-diisopropylphosphoramidit] 147i

Das Phosphoramidit **147i** (C₄₂H₅₁N₂O₆P, M = 710.84 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 11 aus dem 5'-DMT-geschützten Nukleosid **146i** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 48 % Ausbeute (57 mg, 0.08 mmol) isoliert.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 7.54 – 7.50 (m, 2H), 7.43 – 7.38 (m, 4H), 7.31 – 7.22 (m, 6H), 7.12 – 7.09 (m, 1H), 6.86 – 6.81 (m, 4H); 5.19 – 5.13 (m, 1H, H1'), 4.58 – 4.52 (m, 1H), 4.28 – 4.23 (m, 1H), 3.90 – 3.52 (m, 10H), 3.40 – 3.24 (m, 2H), 2.65 – 2.61 (m, 1H), 2.50 – 2.31 (m, 5H), 2.14 – 2.03 (m, 1H), 1.23 – 1.10 (m, 12H). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 158.4 (C_q, DMT), 144.9 (C_q, DMT), 144.9 (C_q, DMT), 141.6 (C_q), 138.0 (C_q), 137.9 (C_q), 136.1 (C_q), 136.1 (C_q), 136.1 (C_q), 136.1 (C_q), 130.2, 130.1, 128.3, 128.2, 128.2, 127.7, 126.8, 126.7, 126.7, 123.2, 117.5 (-CN), 117.5 (-CN), 113.0 (CH, DMT), 86.1, 86.0, 80.4, 80.3 (DMT, C1', C4'), 76.4, 76.1, 76.0, 75.8 (C3'), 64.2 (C5'), 64.2 (C5'), 58.4 (-CH₂CH₂-CN), 58.2 (-CH₂CH₂-CN), 55.2 (OCH₃, DMT), 43.4, 43.3, 43.2, 43.2, 43.1, 43.0 (CH, C2', *i*Pr), 24.7, 24.6, 24.5, 24.4 (CH₃, *i*Pr), 21.4 (Ar-CH₃), 20.4, 20.3, 20.2, 20.1 (-CH₂-CN). ³¹P-NMR: (121.5 MHz, CDCl₃): δ = 147.9, 147.6. HRMS(ESI): *m/z* C₄₂H₅₁N₂O₆PNa⁺ ber. 733.3382 (M+Na⁺), gef. 733.3377. R_f: 0.38 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-β-1',2'-dideoxy-1'-(2-biphenyl)ribofuranose-3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-N,N'-diisopropylphosphoramidit] 147j

Das Phosphoramidit **147j** (C₄₇H₅₃N₂O₆P, M = 772.91 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 11 aus dem 5'-DMT-geschützten Nukleosid **146j** synthetisiert. Nach der säulen-

chromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 67 % Ausbeute (63 mg, 0.08 mmol) isoliert.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 7.76 – 7.72 (m, 1H, H3), 7.50 – 7.46 (m, 2H), 7.40 – 7.16 (m, 15H), 6.84–6.78 (m, 4H, DMT), 5.15 – 5.09 (m, 1H, H1'), 4.45 – 4.32 (m, 1H, H3'), 4.07 – 4.02 (m, 1H), 3.78 – 3.75 (m, 6H, OCH_3), 3.58 – 3.38 (m, 4H), 3.34 – 3.27 (m, 1H), 3.25 – 3.20 (m, 1H), 2.50 – 2.38 (m, 1H), 2.32 – 2.28 (m, 1H), 2.17 – 1.88 (m, 2H), 1.11 – 0.95 (m, 12H). $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 158.4 (C_q , DMT), 144.9 (C_q), 144.8 (C_q), 141.0 (C_q), 140.9 (C_q), 140.8 (C_q), 140.8 (C_q), 139.1 (C_q), 139.0 (C_q), 136.1 (C_q), 136.0 (C_q), 136.0 (C_q), 130.1, 130.1, 129.6, 129.5, 129.2, 129.1, 128.2, 128.2, 128.0, 128.0, 127.7, 127.0, 127.0, 126.9, 126.7, 126.6, 126.0, 125.8, 117.5 (-CN), 117.4 (-CN), 113.0 (CH, DMT), 86.0, 86.0, 85.3, 85.3, 85.2, 85.1 (DMT, $\text{C4}'$), 77.2, 77.1 ($\text{C1}'$), 76.0, 75.8, 75.7, 75.6 ($\text{C3}'$), 64.1 ($\text{C5}'$), 63.9 ($\text{C5}'$), 58.3, 58.1, 58.0, 57.9 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-CN}$), 55.1 (OCH_3 , DMT), 55.1 (OCH_3 , DMT), 43.7 ($\text{C2}'$), 43.6 ($\text{C2}'$), 43.2, 43.1, 43.0, 42.9 (CH, *i*Pr), 24.5, 24.4, 24.3 (CH_3 , *i*Pr), 20.3, 20.2, 20.1, 20.0 ($-\text{CH}_2\text{-CN}$). $^{31}\text{P-NMR}$: (162 MHz, CDCl_3): δ = 149.0, 147.7. MS(ESI): m/z $\text{C}_{48}\text{H}_{53}\text{N}_2\text{O}_6\text{PNa}^+$ ber. 807.4 ($\text{M}+\text{Na}^+$), gef. 807.4. R_f : 0.26 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(3-biphenyl)ribofuranose-3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-N,N'-diisopropylphosphoramidit] 147k

Das Phosphoramidit **147k** ($\text{C}_{47}\text{H}_{53}\text{N}_2\text{O}_6\text{P}$, $M = 772.91 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) wurde entsprechend Vorschrift 11 aus dem 5'-DMT-geschützten Nukleosid **146k** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 60 % Ausbeute (60 mg, 0.08 mmol) isoliert.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 7.68 (s, 1H, H2), 7.56 – 7.18 (m, 17H), 6.81 – 6.74 (m, 4H, DMT), 5.27 – 5.21 (m, 1H, H1'), 4.59 – 4.51 (m, 1H, H3'), 4.29 – 4.25 (m, 1H), 3.89 – 3.55 (m, 12H), 3.40 – 3.23 (m, 2H), 2.65 – 2.60 (m, 1H), 2.49 – 2.35 (m, 2H), 2.18 – 2.06 (m, 1H), 1.20 – 1.07 (m, 12H). $^{31}\text{P-NMR}$: (121.5 MHz, CDCl_3): δ = 148.6, 148.4. HRMS(ESI): m/z $\text{C}_{47}\text{H}_{53}\text{N}_2\text{O}_6\text{PNa}^+$ ber. 795.3533 ($\text{M}+\text{Na}^+$), gef. 795.3549. R_f : 0.38 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(1-phenanthrenyl)ribofuranose-3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-N,N'-diisopropylphosphoramidit] 147l

Das Phosphoramidit **147l** ($C_{49}H_{53}N_2O_6P$, $M = 796.93 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) wurde entsprechend Vorschrift 11 aus dem 5'-DMT-geschützten Nukleosid **146l** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 65 % Ausbeute (99 mg, 0.12 mmol) isoliert.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 8.76 - 8.70$ (m, 2H), 8.09 (dd, $J = 9.3$, $J = 1.6$, 1H), 8.01 – 7.97 (m, 1H), 7.92 (d, $J = 7.7$, 1H), 7.79 (dd, $J = 9.2$, $J = 5.5$, 1H), 7.71 – 7.56 (m, 5H), 7.48 – 7.43 (m, 4H), 7.36 – 7.22 (m, 3H), 6.88 – 6.84 (m, 4H), 6.04 – 5.98 (m, 1H, H1'), 4.71 – 4.63 (m, 1H), 4.44 – 4.38 (m, 1H), 3.95 – 3.60 (m, 10H), 3.54 – 3.39 (m, 2H), 2.79 – 2.50 (m, 3H), 2.29 – 2.18 (m, 1H), 1.27 – 1.15 (m, 12H). $^{13}\text{C-NMR}$: (75.5 MHz, CDCl_3): $\delta = 158.3$ (C_q , DMT), 144.8 (C_q), 144.8 (C_q), 138.1 (C_q), 135.9 (C_q , DMT), 131.3 (C_q), 131.3 (C_q), 130.5 (C_q), 130.3 (C_q), 130.1, 128.9, 128.8, 128.4, 128.3, 128.2, 128.2, 127.7, 127.0, 126.9, 126.7, 126.6, 126.6, 126.6, 126.4, 126.2, 126.2, 123.2, 123.2, 122.8, 122.0, 121.9, 121.9, 117.4 (-CN), 113.0 (CH, DMT), 86.0, 86.0, 85.5, 85.4, 85.2, 85.1 (DMT, C4'), 77.5 (C1'), 76.0, 75.8, 75.5, 75.3 (C3'), 63.9 (C5'), 63.7 (C5'), 58.4, 58.3, 58.1, 58.1 (-CH₂CH₂-CN), 55.1 (OCH₃, DMT), 55.0 (OCH₃, DMT), 43.2, 43.2, 43.0, 43.0 (CH, *i*Pr), 42.4, 42.4, 42.3 (C2'), 24.6, 24.5, 24.4, 24.3 (CH₃, *i*Pr), 20.3, 20.2, 20.1, 20.1 (-CH₂-CN). $^{31}\text{P-NMR}$: (121.5 MHz, CDCl_3): $\delta = 148.4$, 147.9. HRMS(ESI): m/z $C_{49}H_{53}N_2O_6PNa^+$ ber. 819.3539 ($M+Na^+$), gef. 819.3534. R_f : 0.20 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(3-phenanthrenyl)ribofuranose-3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-N,N'-diisopropylphosphoramidit] 147m

Das Phosphoramidit **147m** ($C_{49}H_{53}N_2O_6P$, $M = 796.93 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) wurde entsprechend Vorschrift 11 aus dem 5'-DMT-geschützten Nukleosid **146m** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 80 % Ausbeute (106 mg, 0.13 mmol) isoliert.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 8.82$ (s, 1H, H4), 8.65 – 8.61 (m, 1H, H5), 7.92 – 7.87 (m, 2H, H1, H8), 7.75 (s, 2H, H9, H10), 7.70 (d, $J = 8.2$, 1H), 7.60 – 7.51 (m, 4H), 7.47 – 7.42 (m, 4H), 7.33 – 7.19 (m, 3H); 6.85 – 6.81 (m, 4H), 5.52 – 5.47 (m, 1H, H1'), 4.68 – 4.62 (m, 1H), 4.41 – 4.36 (m, 1H), 3.94 – 3.46 (m, 11H), 3.39 – 3.33 (m, 1H), 2.73 – 2.48 (m,

3H), 2.33 – 2.21 (m, 1H), 1.25 – 1.13 (m, 12H). ^{13}C -NMR: (75.5 MHz, CDCl_3): δ = 158.3 (C_q , DMT), 144.8 (C_q), 144.8 (C_q), 139.9 (C_q), 139.9 (C_q), 136.0 (C_q), 136.0 (C_q), 135.9 (C_q), 135.9 (C_q), 132.0 (C_q), 131.4 (C_q), 130.1, 130.1, 130.0, 128.5, 128.3, 128.2, 128.1, 127.7, 126.6, 126.5, 126.4, 126.3, 124.7, 122.8 (C_5), 122.7 (C_5), 119.9 (C_4), 117.5 ($-\text{CN}$), 117.4, ($-\text{CN}$) 113.0 (CH , DMT), 86.2, 86.1, 86.0, 85.8, 85.8, 80.7, 80.6 (DMT, $\text{C}1'$, $\text{C}4'$), 76.3, 76.1, 75.8, 75.6 ($\text{C}3'$), 64.1 ($\text{C}5'$), 64.0 ($\text{C}5'$), 58.3, 58.3, 58.1, 58.1 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{CN}$), 55.0 (OCH_3 , DMT), 55.0 (OCH_3 , DMT), 43.7 ($\text{C}2'$), 43.6 ($\text{C}2'$), 43.1, 43.1, 43.0 (CH , *i*Pr), 42.9, 24.6, 24.4, 24.4, 24.3, 24.3 (CH_3 , *i*Pr), 20.3, 20.2, 20.0 ($-\text{CH}_2-\text{CN}$). ^{31}P -NMR: (121.5 MHz, CDCl_3): δ = 148.0, 147.8. HRMS(ESI): m/z $\text{C}_{49}\text{H}_{53}\text{N}_2\text{O}_6\text{PNa}^+$ ber. 819.3539 ($\text{M}+\text{Na}^+$), gef. 819.3532. R_f : 0.20 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(*R,S*-[1,1']-binaphthylen-4-yl)ribofuranose-3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-*N,N'*-diisopropylphosphoramidit] 147n

Das Phosphoramidit **147n** ($\text{C}_{55}\text{H}_{57}\text{N}_2\text{O}_6$, $M = 873.02 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) wurde entsprechend Vorschrift 11 aus dem 5'-DMT-geschützten Nukleosid **146n** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 81 % Ausbeute (226 mg, 0.26 mmol) isoliert.

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 8.22 (dd, $J = 8.4$, $J = 4.2$, 1H), 7.98 – 7.91 (m, 3H), 7.63 – 7.18 (m, 18H), 6.86 – 6.81 (m, 4H), 6.05 – 5.98 (m, 1H, $\text{H}1'$), 4.74 – 4.64 (m, 1H), 4.45 – 4.40 (m, 1H), 4.02 – 3.60 (m, 10H), 3.52 – 3.40 (m, 2H), 2.82 – 2.20 (m, 4H), 1.28 – 1.15 (m, 12H). ^{13}C -NMR (75.5 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 158.4 (C_q , DMT), 144.9 (C_q , DMT), 144.8 (C_q , DMT), 138.6 (C_q), 138.6 (C_q), 138.1 (C_q), 138.1 (C_q), 137.3 (C_q), 137.2 (C_q), 136.1 (C_q), 133.5 (C_q), 133.0 (C_q), 132.9 (C_q), 130.6 (C_q), 130.2, 128.3, 128.3, 128.1, 128.1, 128.0, 127.8, 127.8, 127.5, 127.4, 126.8, 126.7, 126.7, 126.6, 126.0, 125.9, 125.8, 125.8, 125.5, 125.4, 125.3, 123.6, 122.1, 122.1, 117.5 ($-\text{CN}$), 113.0 (CH , DMT), 86.3, 86.2, 86.2, 86.2, 85.6, 85.5, 85.3, 85.2 (DMT, $\text{C}4'$), 76.2, 76.0, 75.8, 75.5 ($\text{C}3''$), 64.1, 64.0, 63.9 ($\text{C}5''$), 58.5, 58.5, 58.3, 58.2 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{CN}$), 55.2 (OCH_3 , DMT), 43.3, 43.3, 43.2, 43.1 (CH_3 , *i*Pr), 42.3, 42.2 ($\text{C}2''$), 29.7, 26.9, 24.7, 24.6, 24.5, 24.5 (CH_3 , *i*Pr), 20.4, 20.3, 20.3, 20.2 ($-\text{CH}_2-\text{CN}$). ^{31}P -NMR: (121.5 MHz, CDCl_3): δ = 148.3, 147.9. HRMS(ESI): m/z $\text{C}_{55}\text{H}_{57}\text{N}_2\text{O}_6\text{PNa}^+$ ber. 895.3852 ($\text{M}+\text{Na}^+$), gef. 895.3860. R_f : 0.25 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(2-(7-phenyl)naphthyl)ribofuranose-3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-N,N'-diisopropylphosphoramidit] 147o

Das Phosphoramidit **147o** (C₅₁H₅₅N₂O₆P, M = 822.97 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 11 aus dem 5'-DMT-geschützten Nukleosid **146o** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 80 % Ausbeute (129 mg, 0.16 mmol) isoliert.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 8.04 (s, 2H), 7.99 – 7.86 (m, 2H), 7.81 – 7.71 (m, 3H), 7.62 – 7.23 (m, 11H), 6.89 – 6.85 (m, 4H, DMT), 5.47 – 5.42 (m, 1H, H1'), 4.67 – 4.62 (m, 1H), 4.41 – 4.36 (m, 1H), 3.94 – 3.62 (m, 10H), 3.51 – 3.35 (m, 2H), 2.69 – 2.47 (m, 3H), 2.29–2.19 (m, 1H), 1.27 – 1.15 (m, 12H). ¹³C-NMR: (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 158.3 (C_q, DMT), 144.8 (C_q, DMT), 140.9 (C_q, DMT), 139.7 (C_q), 138.6 (C_q), 138.6 (C_q), 135.9 (C_q), 133.4 (C_q), 132.0 (C_q), 130.0, 128.7, 128.2, 128.2, 128.1, 127.7, 127.2, 127.2, 126.6, 126.6, 125.7, 125.3, 125.3, 124.9, 124.3, 124.3, 117.5 (-CN), 117.4 (-CN), 112.9 (CH, DMT), 86.0, 85.7, 85.6 (DMT, C4'), 80.3, 80.3 (C1'), 76.2, 76.0, 75.8, 75.5 (C3'), 64.2 (C5'), 64.1 (C5'), 58.3 (-CH₂CH₂-CN), 58.1 (-CH₂CH₂-CN), 55.0 (OCH₃, DMT), 43.2, 43.1, 43.1, 43.0, 42.9, 24.6, 24.5, 24.4, 24.3 (CH₃, *i*Pr), 20.3, 20.2, 20.1, 20.0 (-CH₂-CN). ³¹P-NMR: (121.5 MHz, CDCl₃): δ = 148.0, 147.8. HRMS(ESI): *m/z* C₅₁H₅₅N₂O₆PNa⁺ ber. 845.3695 (M+Na⁺), gef. 845.3697. R_f: 0.19 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(2-(7-methyl)naphthyl)ribofuranose-3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-N,N'-diisopropylphosphoramidit] 147p

Das Phosphoramidit **147p** (C₄₆H₅₃N₂O₆P, M = 760.90 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 11 aus dem 5'-DMT-geschützten Nukleosid **146p** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 64 % Ausbeute (82 mg, 0.11 mmol) isoliert.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 8.82 (s, 1H), 8.65 – 8.61 (m, 1H), 7.92 – 7.87 (m, 2H), 7.75 (s, 2H), 7.70 (d, *J* = 8.2, 1H), 7.60 – 7.51 (m, 4H), 7.47 – 7.42 (m, 4H), 7.33 – 7.19 (m, 3H), 6.85 – 6.81 (m, 4H, DMT), 5.41 – 5.35 (m, 1H, H1'), 4.64 – 4.58 (m, 1H, H3'), 4.37 – 4.31 (m, 1H), 3.92 – 3.51 (m, 10H), 3.47 – 3.31 (m, 2H), 2.67 – 2.42 (m, 6H), 2.24 – 2.14 (m, 1H), 1.25 – 1.12 (m, 12H). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 158.3 (C_q, DMT), 144.8 (C_q, DMT), 139.1 (C_q), 136.0 (C_q), 136.0 (C_q), 136.0 (C_q), 136.0 (C_q), 135.5 (C_q), 135.5

(C_q), 133.4 (C_q), 131.1 (C_q), 130.1 (CH, DMT), 130.0 (CH, DMT), 128.2, 128.2, 127.9, 127.9, 127.7, 127.3, 126.8, 126.6, 126.6, 124.1 (CH, Ar), 123.3 (CH, Ar), 123.3 (CH, Ar), 117.5 (-CN), 117.4 (-CN), 113.0 (CH, DMT), 86.0, 85.7, 85.6 (DMT, C4'), 80.4, 80.4 (C1'), 76.2, 76.0, 75.7, 75.5 (C3'), 64.2 (C5'), 64.1 (C5'), 58.3 (-CH₂CH₂-CN), 58.1 (-CH₂CH₂-CN), 55.1 (OCH₃, DMT), 43.2, 43.2, 43.1, 43.0, 42.9 (CH, *i*Pr, C2'), 24.6, 24.5, 24.4, 24.3 (CH₃, *i*Pr), 21.6(Ar-CH₃), 20.3, 20.2, 20.1, 20.0 (-CH₂-CN). ³¹P-NMR: (121.5 MHz, CDCl₃): δ = 148.0, 147.8. HRMS(ESI): *m/z* C₄₆H₅₃N₂O₆PNa⁺ ber. 783.3539 (M+Na⁺), gef. 783.3535. R_f: 0.24 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-β-1',2'-dideoxy-1'-(2-naphthyl)ribofuranose-3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-N,N'-diisopropylphosphoramidit] 147s

Das Phosphoramidit **147s** (C₄₅H₅₁N₂O₆P, M = 746.87 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 11 aus dem 5'-DMT-geschützten Nukleosid **146s** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 79 % Ausbeute (109 mg, 0.15 mmol) isoliert.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 7.97 (s, 1H), 7.88 – 7.80 (m, 3H), 7.61 – 7.55 (m, 3H), 7.50 – 7.42 (m, 6H), 7.35 – 7.23 (m, 3H), 6.87 – 6.83 (m, 4H, DMT), 5.44 – 5.38 (m, 1H, H1'), 4.65 – 4.60 (m, 1H, H3'), 4.39 – 4.33 (m, 1H), 3.93 – 3.56 (m, 10H), 3.49 – 3.40 (m, 1H), 3.38 – 3.32 (m, 1H), 2.67 – 2.62 (m, 1H), 2.59 – 2.44 (m, 2H), 2.26 – 2.16 (m, 1H), 1.26 – 1.14 (m, 12H). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 158.3 (C_q, DMT), 144.8 (C_q), 144.8 (C_q), 139.1 (C_q), 136.0 (C_q), 136.0 (C_q), 136.0 (C_q), 135.9 (C_q), 133.2 (C_q), 132.9 (C_q), 130.1 (CH, DMT), 130.0 (CH, DMT), 128.2, 128.2, 128.0, 127.9, 127.8, 127.7, 127.5, 126.6, 126.6, 125.9, 125.9, 125.6, 125.6, 124.6, 124.2, 124.2 (alle CH), 117.5 (-CN), 117.4 (-CN), 113.0 (CH, DMT), 86.0, 86.0, 85.7, 85.7 (DMT, C4'), 80.4, 80.3 (C1'), 76.2, 76.0, 75.8, 75.6 (C3'), 64.1 (C5'), 64.1 (C5'), 58.3 (-CH₂CH₂-CN), 58.1 (-CH₂CH₂-CN), 55.1 (OCH₃, DMT), 43.2, 43.2, 43.1, 43.0 (CH, *i*Pr, C2'), 42.9, 24.6, 24.5, 24.4, 24.3 (CH₃, *i*Pr), 20.3, 20.2, 20.1, 20.0 (-CH₂-CN). ³¹P-NMR: (121.5 MHz, CDCl₃): δ = 148.0, 147.8. R_f-Wert: 0.44 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(1-indolyl)ribofuranose-3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-N,N'-diisopropylphosphoramidit] 147t

Das Phosphoramidit **147t** ($C_{43}H_{50}N_3O_6P$, $M = 735.85 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) wurde entsprechend Vorschrift 11 aus dem 5'-DMT-geschützten Nukleosid **146t** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 61 % Ausbeute (64 mg, 0.09 mmol) isoliert.

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 7.67 - 7.61$ (m, 1H), $7.61 - 7.56$ (m, 1H), $7.37 - 7.14$ (m, 12H), $6.88 - 6.75$ (m, 4H, DMT), $6.55 - 6.52$ (m, 1H), $6.47 - 6.42$ (m, 1H, H1'), $4.80 - 4.71$ (m, 1H, H3'), $4.24 - 4.30$ (m, 1H), $3.90 - 3.58$ (m, 10H), $3.45 - 3.25$ (m, 2H), $2.77 - 2.46$ (m, 4H), $1.30 - 1.13$ (m, 12H). ^{13}C -NMR (75.5 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 158.3$ (C_q , DMT), 144.6 (C_q , DMT), 136.0 (C_q), 135.9 (C_q), 135.7 (C_q), 135.6 (C_q), 130.1 , 130.0 , 130.0 , 129.0 (C_q , C9), 128.2 , 128.1 , 127.7 , 127.7 , 127.7 , 127.7 , 126.7 , 126.7 , 124.2 (C2), 124.1 (C2), 121.8 , 121.8 , 120.9 , 120.8 , 120.0 , 117.4 (-CN), 117.4 (-CN), 113.0 (CH, DMT), 113.0 (CH, DMT), 110.1 (C7), 110.1 (C7), 102.9 (C3), 102.9 (C3), 86.2 , 86.2 , 85.0 , 84.7 , 84.7 , 84.5 , 84.4 (DMT, C1', C4'), 74.1 , 73.9 , 73.7 , 73.4 (C3'), 63.6 (C5'), 63.4 (C5'), 58.4 , 58.3 , 58.1 , 58.0 (-CH₂CH₂-CN), 55.1 (OCH₃, DMT), 43.2 , 43.2 , 43.1 , 43.0 (CH, *i*Pr), 39.4 (C2'), 39.3 (C2'), 24.6 , 24.5 , 24.4 (CH₃, *i*Pr), 20.3 , 20.2 , 20.1 , 20.0 (-CH₂-CN). ^{31}P -NMR: (121.5 MHz, CDCl_3): $\delta = 148.8$, 148.5 . HRMS(ESI): m/z $C_{48}H_{50}N_3O_6Na^+$ ber. 758.3329 ($M+Na^+$), gef. 758.3330. R_f : 0.23 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(4-biphenyl)ribofuranose-3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-N,N'-diisopropylphosphoramidit] 147u

Das Phosphoramidit **147u** ($C_{47}H_{53}N_2O_6P$, $M = 772.91 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) wurde entsprechend Vorschrift 11 aus dem 5'-DMT-geschützten Nukleosid **146u** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 57 % Ausbeute (65 mg, 0.11 mmol) isoliert.

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 7.63 - 7.23$ (m, 18H), $6.88 - 6.83$ (m, 4H, DMT), $5.29 - 5.23$ (m, 1H, H1'), $4.62 - 4.56$ (m, 1H, H3'), $4.34 - 4.27$ (m, 1H, H4'), $3.94 - 3.56$ (m, 10H), $3.42 - 3.28$ (m, 2H), $2.67 - 2.63$ (m, 1H), $2.52 - 2.38$ (m, 2H), $2.18 - 2.07$ (m, 1H, H2'), $1.24 - 1.12$ (m, 12H). ^{13}C -NMR (75.5 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 158.3$ (C_q , DMT), 144.8 (C_q), 144.8 (C_q), 140.8 (C_q), 140.8 (C_q), 140.7 (C_q), 140.7 (C_q), 140.4 (C_q), 140.3 (C_q), 136.0

(C_q, DMT), 136.0 (C_q, DMT), 136.0 (C_q, DMT), 136.0 (C_q, DMT), 130.1, 130.0, 128.6, 128.2, 128.2, 127.7, 127.1, 127.0, 126.7, 126.6, 126.5, 117.4 (-CN), 113.0 (CH, DMT), 86.0, 86.0, 80.0, 80.0 (DMT, C1', C4'), 76.3, 76.1, 75.9, 75.6 (C3'), 64.1 (C5'), 64.1 (C5'), 58.4, 58.3, 58.1, 58.1 (-CH₂CH₂-CN), 55.1 (OCH₃, DMT), 43.3, 43.2, 43.1, 43.0, 43.0 (CH, *i*Pr, C2'), 24.6, 24.5, 24.4, 24.3 (CH₃, *i*Pr), 20.3, 20.2, 20.1, 20.1 (-CH₂-CN). ³¹P-NMR: (121.5 MHz, CDCl₃): δ = 148.0, 147.8. R_f: 0.29 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-β-1',2'-dideoxy-1'-phenyloxoribofuranose-3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-N,N'-diisopropylphosphoramidit] 147v

Das Phosphoramidit **147v** (C₄₁H₄₉N₂O₇P, M = 712.81 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 10 aus dem 5'-DMT-geschützten Nukleosid **146v** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 91 % Ausbeute (177 mg, 0.25 mmol) isoliert.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 7.48 – 7.00 (m, 14H), 6.74 – 6.66 (m, 4H, DMT), 6.00 – 5.96 (m, 1H, H1'), 4.80 – 4.61 (m, 1H, H3'), 4.30 – 4.25 (m, 1H), 3.86 – 3.52 (m, 12H), 3.32 – 3.16 (m, 2H), 2.71 – 2.35 (m, 4H), 1.27 – 1.04 (m, 12H). ¹³C-NMR: (75.5 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 158.2 (C_q, DMT), 158.1 (C_q, DMT), 157.2 (C_q, -OPh), 157.1 (C_q, -OPh), 144.8 (C_q, DMT), 144.8 (C_q, DMT), 135.9 (C_q), 135.9 (C_q), 135.8 (C_q), 135.8 (C_q), 130.0, 129.9, 129.9, 129.3, 128.1, 128.1, 127.5, 126.5, 126.4, 121.4 (CH, OPh), 121.4 (CH, OPh), 117.5 (-CN), 117.4 (-CN), 116.2 (CH, OPh), 116.2 (CH, OPh), 112.8 (CH, DMT), 102.0, 101.9 (C1'), 85.8, 85.4, 85.3, 85.2, 85.1 (DMT, C4'), 73.6, 73.4, 73.2, 72.9 (C3'), 64.3 (C5'), 64.0 (C5'), 58.4, 58.2, 58.2, 58.0 (-CH₂CH₂-CN), 55.1 (OCH₃, DMT), 55.0 (OCH₃, DMT), 43.2, 43.1, 43.0, 42.9 (CH, *i*Pr), 40.9, 40.8, 40.6, 40.6 (C2'), 24.5, 24.5, 24.4, 24.3, 24.3 (CH₃, *i*Pr), 20.2, 20.1, 20.0, 19.9 (-CH₂-CN). ³¹P-NMR: (121.5 MHz, CDCl₃): δ = 149.7, 149.2. HRMS(ESI): *m/z* C₄₁H₄₉N₂O₇PNa⁺ ber. 735.3170 (M+Na⁺), gef. 735.3180. R_f: 0.24 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-β-1',2'-dideoxy-1'-(1-(5-methyl)naphthyl)ribofuranose-3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-N,N'-diisopropylphosphoramidit] 147w

Das Phosphoramidit **147w** (C₄₆H₅₃N₂O₆P, M = 760.90 g·mol⁻¹) wurde entsprechend Vorschrift 11 aus dem 5'-DMT-geschützten Nukleosid **146w** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 52 % Ausbeute (97 mg,

0.13 mmol) isoliert. Der Extinktionskoeffizient des Nukleosides beträgt $\epsilon_{260 \text{ nm}} = 2300 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$.

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 8.01 - 7.97$ (m, 2H), $7.90 - 7.86$ (m, 1H), $7.58 - 7.50$ (m, 3H), $7.47 - 7.20$ (m, 10H), $6.88 - 6.83$ (m, 4H, DMT), $5.98 - 5.91$ (m, 1H, H1'), $4.68 - 4.59$ (m, 1H, H3'), $4.40 - 4.34$ (m, 1H), $3.93 - 3.61$ (m, 10H), $3.52 - 3.37$ (m, 2H), 2.74 (s, 3H), $2.67 - 2.48$ (m, 3H), $2.22 - 2.11$ (m, 1H), $1.25 - 1.13$ (m, 12H). ^{13}C -NMR (75.5 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 158.3$ (C_q , DMT), 144.8 (C_q , DMT), 144.8 (C_q , DMT), 138.0 (C_q), 136.0 (C_q , DMT), 136.0 (C_q , DMT), 135.9 (C_q , DMT), 134.8 (C_q), 134.8 (C_q), 132.6 (C_q), 130.5 (C_q), 130.4 (C_q), 130.1 (CH, DMT), 130.1 (CH, DMT), 128.2 , 128.2 , 127.7 , 126.6 , 126.6 , 126.2 , 126.2 , 125.5 , 125.5 , 125.3 , 125.3 , 123.6 , 123.6 , 122.0 , 121.9 , 121.5 , 117.4 (-CN), 112.9 (CH, DMT), 86.0 , 86.0 , 85.3 , 85.3 , 85.0 , 84.9 (DMT, C1', C4'), 76.0 , 75.7 , 75.5 , 75.3 (C3'), 63.9 (C5'), 63.7 (C5'), 58.4 , 58.3 , 58.1 , 58.1 (-CH₂CH₂-CN), 55.1 (OCH₃, DMT), 55.0 (OCH₃, DMT), 43.2 , 43.1 , 43.0 , 43.0 (CH, *i*Pr), 42.4 , 42.3 , 42.3 (C2'), 24.6 , 24.4 , 24.3 , 24.3 (CH₃, *i*Pr), 20.3 , 20.2 , 20.1 , 20.0 (-CH₂-CN), 19.8 (Ar-CH₃). ^{31}P -NMR: (121.5 MHz, CDCl_3): $\delta = 148.3$, 147.9 . HRMS(ESI): m/z $\text{C}_{46}\text{H}_{53}\text{N}_2\text{O}_6\text{PNa}^+$ ber. 783.3539 ($\text{M}+\text{Na}^+$), gef. 783.3536 . R_f : 0.37 (Cyclohexan:Ethyl-acetat = 4.5:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(1-(5-phenyl)naphthyl)ribofuranose-3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-N,N'-diisopropylphosphoramidit] 147x

Das Phosphoramidit **147x** ($\text{C}_{51}\text{H}_{55}\text{N}_2\text{O}_6\text{P}$, $M = 822.97 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) wurde entsprechend Vorschrift 11 aus dem 5'-DMT-geschützten Nukleosid **146x** synthetisiert. Nach der säulen-chromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 13 % Ausbeute (9 mg, 0.01 mmol) isoliert. Der Extinktionskoeffizient des Nukleosides beträgt $\epsilon_{260 \text{ nm}} = 3300 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$.

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 8.11$ (d, $J = 8.5$, 1H), $7.85 - 7.80$ (m, 2H), $7.53 - 7.17$ (m, 17H), $6.84 - 6.80$ (m, 4H, DMT), $5.97 - 5.91$ (m, 1H, H1'), $4.66 - 4.56$ (m, 1H, H3'), $4.38 - 4.32$ (m, 1H), $3.93 - 3.59$ (m, 10H), $3.48 - 3.34$ (m, 2H), $2.75 - 2.59$ (m, 2H), $2.52 - 2.48$ (m, 1H), $2.24 - 2.13$ (m, 1H), $1.27 - 1.11$ (m, 12H). ^{31}P -NMR: (121.5 MHz, CDCl_3): $\delta = 148.3$, 147.9 . HRMS(ESI): m/z $\text{C}_{51}\text{H}_{55}\text{N}_2\text{O}_6\text{PNa}^+$ ber. 845.3695 ($\text{M}+\text{Na}^+$), gef. 845.3697 . R_f : 0.41 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(2-(7-methyl)naphthyl)ribofuranose-3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-N,N'-diisopropylphosphoramidit] **147y**

Das Phosphoramidit **147y** ($\text{C}_{46}\text{H}_{53}\text{N}_2\text{O}_6\text{P}$, $M = 760.90 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) wurde entsprechend Vorschrift 11 aus dem 5'-DMT-geschützten Nukleosid **146y** synthetisiert. Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung wurde ein farbloser Schaum in 45 % Ausbeute (36 mg, 0.05 mmol) isoliert. Der Extinktionskoeffizient des Nukleosides beträgt $\epsilon_{260 \text{ nm}} = 3300 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$.

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 8.07$ (s, 1H), 7.84 (d, $J = 8.4$, 1H), 7.70 (d, $J = 7.9$, 1H), 7.60 – 6.80 (m, 16H), 5.42 – 5.37 (m, 1H, H1'), 4.63 – 4.58 (m, 1H, H3'), 4.35 – 4.30 (m, 1H), 3.91 – 3.57 (m, 10H), 3.48 – 3.40 (m, 1H), 3.33 – 3.27 (m, 1H), 2.72 – 2.63 (m, 4H), 2.55 – 2.40 (m, 2H), 2.26 – 2.14 (m, 1H), 1.23 – 1.10 (m, 12H). ^{13}C -NMR (75.5 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 158.6$ (C_q , DMT), 158.4 (C_q , DMT), 144.9 (C_q , DMT), 139.4 (C_q), 138.9 (C_q), 138.9 (C_q), 136.1 (C_q), 136.1 (C_q), 136.0 (C_q), 136.0 (C_q), 134.3 (C_q), 133.1 (C_q), 132.4 (C_q), 130.1 (CH, DMT), 130.1 (CH, DMT), 129.1, 128.7, 128.3, 128.2, 127.8, 127.8, 127.1, 126.7, 126.1, 125.5, 125.4, 124.0, 121.2, 117.5 (-CN), 117.5 (-CN), 113.1 (CH, DMT), 113.0 (CH, DMT), 86.1, 81.4, 80.9, 80.8 (DMT, C1', C4'), 76.2, 76.0, 75.9, 75.7 (C3'), 64.1, 64.1, 64.0, 64.0 (C5'), 58.4, 58.2 (-CH₂CH₂-CN), 55.2 (OCH₃, DMT), 55.2 (OCH₃, DMT), 43.6, 43.5, 43.3, 43.2, 43.1, 43.0 (CH, *i*Pr, C2), 24.7, 24.6, 24.5 (CH₃, *i*Pr), 24.4, 20.4, 20.3, 20.1 (-CH₂-CN), 19.4 (Ar-CH₃). ^{31}P -NMR: (162 MHz, CDCl_3): $\delta = 147.9$, 147.8. HRMS(ESI): m/z $\text{C}_{46}\text{H}_{53}\text{N}_2\text{O}_6\text{PNa}^+$ ber. 783.3539 ($M+\text{Na}^+$), gef. 783.3540. R_f : 0.43 (Cyclohexan:Ethylacetat = 4.5:1).

6.3 Synthese und Aufreinigung von Oligonukleotiden

DNA-Synthese

Synthese und Kupplungsprotokoll: Die DNA-Oligonukleotide wurden im 1 μmol -Maßstab auf einem *Applied Biosystems 3400 DNA/RNA-Synthesizer* dargestellt. Die dargestellten Phosphoramidite wurden unter Argon in trockenem Dichlormethan gelöst, so dass eine 0.03 – 0.2 molare Lösung erhalten wurde. Die Lösung wurde durch einen Spritzenfilter (Porengröße 0.2 μm) in ein trocknes, sauberes ABI-Synthesizer-kompatibles Glasfläschchen filtriert und dieses zusammen mit den Gefäßen für A, G, C und T und den weiteren Reagenzien am

Synthesizer befestigt. Als Festphase wurden 1 μ mol CPG-Kartuschen verwendet. Für die Synthese wurde das im Synthesizer fest implementierte Standardprotokoll für die DNA-Synthese (1 μ m-PO) und der „trityl-on“-Modus verwendet. Die Kupplungszeit für die C-Nukleosid-Phosphoramidite wurde auf 600 s verlängert (CTIME 5 = 600). Die Qualität der Kupplungen wurde durch das leitfähigkeitsabhängige Tritylmonitoring überwacht.

Aufarbeitung und Reinigung: Zur Abspaltung von der festen Phase und der Schutzgruppen wurden das CPG-Granulat in ein Eppendorf-Gefäß überführt und für 16 h bei 55°C mit 700 μ l konzentrierter Ammoniumhydroxid-Lösung versetzt. Der Überstand wurde von den CPG's abgetrennt und nochmals mit 300 μ l Wasser gewaschen. Die Lösung wurde durch einen Spritzenfilter (Porengröße 0.2 μ m) filtriert und anschließend wurde das Lösungsmittel in einer *Speed vac* abgedampft. Die Oligonukleotide wurden über semipräparative RP-HPLC (Kap. 6.1) aufgereinigt. Der Gehalt an Produkt in den Fraktionen des Hauptpeaks wurde mit MALDI-TOF MS überprüft. Die produkthaltigen Fraktionen wurden vereint, in flüssigem Stickstoff ausgefroren und gefriergetrocknet. Die 5'-O-DMT-geschützten Oligonukleotide wurden durch Behandlung mit 200 μ l 80 % Essigsäure pro 12 OD₂₆₀ für 30 min entschützt. Anschließend wurden 30 μ l 3 M wässrige Natriumacetat-Lösung (pH 5.2) und 500 μ l 2-Propanol pro 12 OD₂₆₀ zugegeben und die Oligonukleotide für 1 h bei -18°C gelagert um sie auszufällen. Danach wurde für 20 min bei 4°C zentrifugiert und der Überstand abgenommen. Der Rückstand wurde mit eiskaltem 80%igem Ethanol gewaschen und für 10 Minuten in der *Speed vac* getrocknet. Die Oligonukleotide wurde in Wasser gelöst und zumeist erneut über semipräparative RP-HPLC (Kap. 6.1) „trityl-off“ aufgereinigt. Alle produkthaltigen Fraktionen wurden gesammelt, in flüssigem Stickstoff ausgefroren und gefriergetrocknet. Anschließend wurde in 0.5 ml Wasser gelöst und über Gelfiltration mit *NAPTM5-Säulen* von *GE Healthcare* entsprechend dem in der Verpackung beigelegten Protokoll entsalzt. Dabei wurde das Oligonukleotid in einem ml Wasser aufgefangen und mittels MALDI-TOF MS und analytischer RP-HPLC charakterisiert. Die Ausbeute wurde mittels UV-Absorption bei 260 nm quantifiziert. Die aufgereinigten Oligonukleotide wurden in zwei Teile aliquotiert. Ein Teil der Oligonukleotide **148a-l** und **150a-j** wurde gefriergetrocknet und zur Bestimmung der Dissoziationskonstanten zur Arbeitsgruppe von Prof. Elmar Weinhold nach Aachen versendet. Der Rest diente als Stammlösung für Fluoreszenz- und Schmelzmessungen von Duplexen und Einzelsträngen.

Konzentrationsbestimmung/Ausbeutebestimmung: Die Konzentrationsbestimmung wurde an einem *NanoDrop* ND-1000 UV-VIS-Spektrometer durchgeführt. Dazu wurden die molaren Extinktionskoeffizienten der Oligonukleotide bei $\lambda = 260$ nm mit Hilfe des Rechenprogramms der Firma *Integrated DNATechnologies* ermittelt.^[179] Die Extinktionskoeffizienten der C-Nukleosid-modifizierten Oligonukleotide wurde aus der Addition der Extinktionskoeffizienten von der Sequenz in 5'-Richtung zum C-Nukleosid, in 3'-Richtung zum C-Nukleosid und aus der Extinktionskoeffizienten des Nukleosides bestimmt.

Bestimmung der Schmelztemperaturen: Für die Durchführung der Denaturierungsexperimente wurden die Proben in 1 μ M Konzentration in einer entgasteten wässrigen Lösung von NaCl (100 mM) mit NaH₂PO₄ (10 mM) bei pH 7.0 als Puffer gelöst. Vor der Messung wurden die Proben auf 85°C erhitzt und dann auf mit einer Rate von 5°C/min auf 15°C abgekühlt. Die Daten wurden gesammelt während die Proben 3x mit einer Heizrate von 0.5°C/min auf 85°C erhitzt wurden. Die angegebenen T_M-Werte entsprechen dem Maximum der ersten Ableitung der Schmelzkurve und sind der Mittelwert aus mindestens zwei Messungen. Das Pyrenoligonukleotid **150a** wurde, wie von Kool *et al.* beschrieben, charakterisiert.^[39]

Oligonukleotide mit der M. TaqI-Erkennungssequenz

5'-CGGCA-(1-Phenanthrenyl)dRib-CGAGCGGC-3' 148a: Synthese unter Verwendung des Phosphoramidites **147l**. Ausbeute OD₂₆₀ = 28.4/166 nmol. C₁₄₄H₁₇₄N₅₅O₇₉P₁₃. $\epsilon_{260 \text{ nm}} = 170800 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. MALDI-TOF: m/z ber. (M-H)⁻ 4340.94 g/mol, gef. 4340.5. HPLC: t_R = 17.0 min (Gradient 4).

5'-CGGCA-(1-(4-Methyl)naphthyl)dRib-CGAGCGGC-3' 148b: Synthese unter Verwendung des Phosphoramidites **147g**. Ausbeute OD₂₆₀ = 2.6/21 nmol. C₁₄₁H₁₇₄N₅₅O₇₉P₁₃. $\epsilon_{260 \text{ nm}} = 123800 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. MALDI-TOF: m/z ber. (M-H)⁻ 4304.91 g/mol, gef. 4305.0. HPLC: t_R = 15.3 min (Gradient 4).

5'-CGGCA-(4-(1,1'-Binaphthyl))dRib-CGAGCGGC-3' 148c/164B: Synthese unter Verwendung des Phosphoramidites **147n**. Ausbeute OD₂₆₀ = 20.6/157 nmol. C₁₅₀H₁₇₈N₅₅O₇₉P₁₃. $\epsilon_{260 \text{ nm}} = 130900 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. MALDI-TOF: m/z ber. (M-H)⁻ 4417.04 g/mol, gef. 4417.1. HPLC: t_R = 14.6 min, 14.9 min (Gradient 5).

5'-CGGCA-(1-(5-Methyl)naphthyl)dRib-CGAGCGGC-3' 148d: Synthese unter Verwendung des Phosphoramidites **147w**. Ausbeute OD₂₆₀ = 33.6/270 nmol.

$C_{141}H_{174}N_{55}O_{79}P_{13}$. $\epsilon_{260\text{ nm}} = 124500\text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. MALDI-TOF: m/z ber. $(M-H)^{-}$ 4304.91 g/mol, gef. 4305.0. HPLC: $t_R = 15.3$ min (Gradient 4).

5'-CGGCA-(1-(5-Phenyl)naphthyl)dRib-CGAGCGGC-3' 148e: Synthese unter Verwendung des Phosphoramidites **147x**. Ausbeute $OD_{260} = 8.6/69$ nmol. $C_{146}H_{176}N_{55}O_{79}P_{13}$. $\epsilon_{260\text{ nm}} = 124500\text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. MALDI-TOF: m/z ber. $(M-H)^{-}$ 4367.0 g/mol, gef. 4367.4. HPLC: $t_R = 19.5$ min (Gradient 4).

5'-CGGCA-(3-Phenanthrenyl)dRib-CGAGCGGC-3' 148f: Synthese unter Verwendung des Phosphoramidites **147m**. Ausbeute $OD_{260} = 21.5/126$ nmol. $C_{144}H_{174}N_{55}O_{79}P_{13}$. $\epsilon_{260\text{ nm}} = 170800\text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. MALDI-TOF: m/z ber. $(M-H)^{-}$ 4340.94 g/mol, gef. 4341.3. HPLC: $t_R = 16.9$ min (Gradient 4).

5'-CGGCA-(2-(7-Phenyl)naphthyl)dRib-CGAGCGGC-3' 148g: Synthese unter Verwendung des Phosphoramidites **147o**. Ausbeute $OD_{260} = 35.9/222$ nmol. $C_{146}H_{176}N_{55}O_{79}P_{13}$. $\epsilon_{260\text{ nm}} = 162000\text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. MALDI-TOF: m/z ber. $(M-H)^{-}$ 4367.0 g/mol, gef. 4367.7. HPLC: $t_R = 19.4$ min (Gradient 4).

5'-CGGCA-(2-(7-Methyl)naphthyl)dRib-CGAGCGGC-3' 148h: Synthese unter Verwendung des Phosphoramidites **147p**. Ausbeute $OD_{260} = 10.2/80$ nmol. $C_{141}H_{174}N_{55}O_{79}P_{13}$. $\epsilon_{260\text{ nm}} = 126700\text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. MALDI-TOF: m/z ber. $(M-H)^{-}$ 4304.91 g/mol, gef. 4305.8. HPLC: $t_R = 16.4$ min (Gradient 4).

5'-CGGCA-(2-(8-Methyl)naphthyl)dRib-CGAGCGGC-3' 148i: Synthese unter Verwendung des Phosphoramidites **147y**. Ausbeute $OD_{260} = 5.6/44$ nmol. $C_{141}H_{174}N_{55}O_{79}P_{13}$. $\epsilon_{260\text{ nm}} = 125500\text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. MALDI-TOF: m/z ber. $(M-H)^{-}$ 4304.91 g/mol, gef. 4305.5. HPLC: $t_R = 16.3$ min (Gradient 4).

5'-CGGCA-(2-Fluorenyl)dRib-CGAGCGGC-3' 148j: Synthese unter Verwendung des Phosphoramidites **147e**. Ausbeute $OD_{260} = 10.7/80$ nmol. $C_{143}H_{174}N_{55}O_{79}P_{13}$. $\epsilon_{260\text{ nm}} = 134600\text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. MALDI-TOF: m/z ber. $(M-H)^{-}$ 4328.93 g/mol, gef. 4330.7. HPLC: $t_R = 16.5$ min (Gradient 4).

5'-CGGCA-(2-Biphenyl)dRib-CGAGCGGC-3' 148k: Synthese unter Verwendung des Phosphoramidites **147k**. Ausbeute $OD_{260} = 4.0/33$ nmol. $C_{142}H_{174}N_{55}O_{79}P_{13}$. $\epsilon_{260\text{ nm}} = 123100\text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. MALDI-TOF: m/z ber. $(M-H)^{-}$ 4316.92 g/mol, gef. 4316.3. HPLC: $t_R = 16.4$ min (Gradient 4).

5'-CGGCA-(3-Biphenyl)dRib-CGAGCGGC-3' 148l: Synthese unter Verwendung des Phosphoramidites **147j**. Ausbeute $OD_{260} = 3.8/28$ nmol. $C_{142}H_{174}N_{55}O_{79}P_{13}$. $\epsilon_{260\text{ nm}} = 135400\text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. MALDI-TOF: m/z ber. $(M-H)^{-}$ 4316.92 g/mol, gef. 4316.4. HPLC: $t_R = 16.4$ min (Gradient 4).

5'-GCCGCTCG-dSpacer-TGCCG-3' 149H: Synthese unter Verwendung des kommerziell erhältlichen dSpacer-Phosphoramidites. Ausbeute $OD_{260} = 32.0/295$ nmol. $C_{129}H_{168}N_{47}O_{83}P_{13}$. $\epsilon_{260\text{ nm}} = 110100\text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. MALDI-TOF: m/z ber. $(M-H)^{-}$ 4106.67 g/mol, gef. 4107.2. HPLC: $t_R = 14.1$ min (Gradient 3).

5'-GCCGCTCG-2-Aminopurin(dRib)-TGCCG-3' 149Ap: Synthese unter Verwendung des kommerziell erhältlichen 2-Aminopurin-Phosphoramidites. Ausbeute $OD_{260} = 29.7/268$ nmol. $C_{134}H_{171}N_{52}O_{83}P_{13}$. $\epsilon_{260\text{ nm}} = 111100\text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. MALDI-TOF: m/z ber. $(M-H)^{-}$ 4239.8 g/mol, gef. 4240.7. HPLC: $t_R = 14.3$ min (Gradient 3).

Oligonukleotide mit der E.coli Dam-Erkennungssequenz

5'-CGTCTTAG^{Me}A-(1-Pyrenyl)dRib-CCGTGAGC-3' 150a: Synthese unter Verwendung des Phosphoramidites **147a**. Ausbeute $OD_{260} = 22.3/128$ nmol (aus $\sim 1/2$ $1\mu\text{M}$ Ansatz). $C_{187}H_{228}N_{63}O_{106}P_{17}$. MALDI-TOF: m/z ber. $(M-H)^{-}$ 5579.8 g/mol, gef. 5579.8. HPLC: $t_R = 17.0$ min (Gradient 4).

5'-CGTCTTAG^{Me}A-(2-Naphthyl)dRib-CCGTGAGC-3' 150b: Synthese unter Verwendung des Phosphoramidites **147s**. Ausbeute $OD_{260} = 27.9/171$ nmol. $C_{181}H_{226}N_{63}O_{106}P_{17}$. $\epsilon_{260\text{ nm}} = 163300\text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. MALDI-TOF: m/z ber. $(M-H)^{-}$ 5505.7 g/mol, gef. 5505.8. HPLC: $t_R = 15.8$ min (Gradient 4).

5'-CGTCTTAG^{Me}A-(4-Biphenyl)dRib-CCGTGAGC-3' 150c: Synthese unter Verwendung des Phosphoramidites **147u**. Ausbeute $OD_{260} = 39.3/218$ nmol. $C_{183}H_{228}N_{63}O_{106}P_{17}$. $\epsilon_{260\text{ nm}} = 180300\text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. MALDI-TOF: m/z ber. $(M-H)^{-}$ 5531.7 g/mol, gef. 5531.3. HPLC: $t_R = 16.9$ min (Gradient 4).

5'-CGTCTTAG^{Me}A-(1-(3-Methyl)phenyl)dRib-CCGTGAGC-3' 150d: Synthese unter Verwendung des Phosphoramidites **147i**. Ausbeute $OD_{260} = 35.4/220$ nmol. $C_{178}H_{226}N_{63}O_{106}P_{17}$. $\epsilon_{260\text{ nm}} = 161500\text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. MALDI-TOF: m/z ber. $(M-H)^{-}$ 5469.66 g/mol, gef. 5468.8. HPLC: $t_R = 15.3$ min (Gradient 4).

5'-CGTCTTAG^{Me}A-(Phenyloxy)dRib-CCGTGAGC-3' 150e: Synthese unter Verwendung des Phosphoramidites **147v**. Ausbeute OD₂₆₀ = 30.6/189 nmol. C₁₇₇H₂₂₄N₆₃O₁₀₇P₁₇. ε_{260 nm} = 162100 l·mol⁻¹·cm⁻¹. MALDI-TOF: m/z ber. (M-H)⁻ 5471.6 g/mol, gef. 5471.1. HPLC: t_R = 17.0 min (Gradient 3).

5'-CGTCTTAG^{Me}A-(1-Indolyl)dRib-CCGTGAGC-3' 150f: Synthese unter Verwendung des Phosphoramidites **147t**. Ausbeute OD₂₆₀ = 12.4/75 nmol. C₁₇₉H₂₂₅N₆₄O₁₀₆P₁₇. ε_{260 nm} = 165000 l·mol⁻¹·cm⁻¹. MALDI-TOF: m/z ber. (M-H)⁻ 5494.7 g/mol, gef. 5494.4. HPLC: t_R = 16.4 min (Gradient 3).

5'-CGTCTTAG^{Me}A-(β-3-Indolyl)dRib-CCGTGAGC-3' 150g: Synthese unter Verwendung des Phosphoramidites **147d**. Ausbeute OD₂₆₀ = 10.8/64 nmol. C₁₇₉H₂₂₅N₆₄O₁₀₆P₁₇. ε_{260 nm} = 166300 l·mol⁻¹·cm⁻¹. MALDI-TOF: m/z ber. (M-H)⁻ 5494.7 g/mol, gef. 5494.0. HPLC: t_R = 17.0 min (Gradient 3).

5'-CGTCTTAG^{Me}A-(α-3-Indolyl)dRib-CCGTGAGC-3' 150h: Synthese unter Verwendung des Phosphoramidites **147d**. Ausbeute OD₂₆₀ = 6.8/41 nmol. C₁₇₉H₂₂₅N₆₄O₁₀₆P₁₇. ε_{260 nm} = 166300 l·mol⁻¹·cm⁻¹. MALDI-TOF: m/z ber. (M-H)⁻ 5494.7 g/mol, gef. 5494.5. HPLC: t_R = 17.3 min (Gradient 3).

5'-CGTCTTAG^{Me}A-(β-4-Phenolyl)dRib-CCGTGAGC-3' 150i: Synthese unter Verwendung des Phosphoramidites **147bβ**. Ausbeute OD₂₆₀ = 8.6/53 nmol. C₁₇₇H₂₂₄N₆₃O₁₀₇P₁₇. ε_{260 nm} = 162000 l·mol⁻¹·cm⁻¹. MALDI-TOF: m/z ber. (M-H)⁻ 5471.6 g/mol, gef. 5471.7. HPLC: t_R = 15.8 min (Gradient 3).

5'-CGTCTTAG^{Me}A-(α-4-Phenolyl)dRib-CCGTGAGC-3' 150j: Synthese unter Verwendung des Phosphoramidites **147ba**. Ausbeute OD₂₆₀ = 9.7/60 nmol. C₁₇₇H₂₂₄N₆₃O₁₀₇P₁₇. ε_{260 nm} = 162000 l·mol⁻¹·cm⁻¹. MALDI-TOF: m/z ber. (M-H)⁻ 5471.6 g/mol, gef. 5471.7. HPLC: t_R = 15.4 min (Gradient 3).

5'-GCTCACGG-dSpacer-TCTAAGACG-3' 151H: Synthese unter Verwendung des kommerziell erhältlichen dSpacer-Phosphoramidites. Ausbeute OD₂₆₀ = 44.4/272 nmol. C₁₇₅H₂₁₇N₆₆O₁₀₄P₁₇. ε_{260 nm} = 163400 l·mol⁻¹·cm⁻¹. MALDI-TOF: m/z ber. (M-H)⁻ 5374.5 g/mol, gef. 5374.6. HPLC: t_R = 15.1 min (Gradient 3).

5'-GCTCACGG-2-Aminopurin(dRib)-TCTAAGACG-3' 151Ap: Synthese unter Verwendung des kommerziell erhältlichen 2-Aminopurin-Phosphoramidites. Ausbeute OD₂₆₀

= 42.5/260 nmol. $C_{175}H_{220}N_{71}O_{104}P_{17}$. $\epsilon_{260 \text{ nm}} = 164400 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. MALDI-TOF: m/z ber. (M-H)⁻ 5507.6 g/mol, gef. 5507.0. HPLC: $t_R = 14.6 \text{ min}$ (Gradient 3).

Binaphthyl-DNA

5'-TAGTTCT-B-TGAGAAGGTG-3' B = (4-(1,1'-Binaphthyl))dRib 155B: Synthese unter Verwendung des Phosphoramidites **147n**. Ausbeute $OD_{260} = 28.2/156 \text{ nmol}$. $C_{194}H_{232}N_{65}O_{107}P_{17}$. $\epsilon_{260 \text{ nm}} = 180100 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. MALDI-TOF: m/z ber. (M-H)⁻ 5711.9 g/mol, gef. 5711.4. HPLC: $t_R = 17.0 \text{ min}$ (Gradient 5).

5'-TAGTTCA-B-AGAGAAGGTG-3' B = (4-(1,1'-Binaphthyl))dRib 156B: Synthese unter Verwendung des Phosphoramidites **147n**. Ausbeute $OD_{260} = 29.3/152 \text{ nmol}$. $C_{194}H_{230}N_{71}O_{103}P_{17}$. $\epsilon_{260 \text{ nm}} = 192100 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. MALDI-TOF: m/z ber. (M-H)⁻ 5729.9 g/mol, gef. 5728.3. HPLC: $t_R = 14.2 \text{ min}, 14.4 \text{ min}$ (Gradient 5).

5'-TAGTTCC-B-CGAGAAGGTG-3' B = (4-(1,1'-Binaphthyl))dRib 157B: Synthese unter Verwendung des Phosphoramidites **147n**. Ausbeute $OD_{260} = 27.9/156 \text{ nmol}$. $C_{192}H_{230}N_{67}O_{105}P_{17}$. $\epsilon_{260 \text{ nm}} = 178500 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. MALDI-TOF: m/z ber. (M-H)⁻ 5681.9 g/mol, gef. 5681.1. HPLC: $t_R = 14.6 \text{ min}$ (Gradient 5).

5'-TAGTTCCG-B-GGAGAAGGTG-3' B = (4-(1,1'-Binaphthyl))dRib 158B: Synthese unter Verwendung des Phosphoramidites **147n**. Ausbeute $OD_{260} = 28.2/152 \text{ nmol}$. $C_{194}H_{230}N_{71}O_{105}P_{17}$. $\epsilon_{260 \text{ nm}} = 185500 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. MALDI-TOF: m/z ber. (M-H)⁻ 5761.9 g/mol, gef. 5761.4. HPLC: $t_R = 14.4 \text{ min}, 14.6 \text{ min}$ (Gradient 5).

5'-CGGCCA-BB-CGAGCGGC-3' B = (4-(1,1'-Binaphthyl))dRib 164B₂: Synthese unter Verwendung des Phosphoramidites **147n**. Ausbeute $OD_{260} = 18.4/131 \text{ nmol}$. $C_{175}H_{199}N_{55}O_{84}P_{14}$. $\epsilon_{260 \text{ nm}} = 139600 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. MALDI-TOF: m/z ber. (M-H)⁻ 4849.5 g/mol, gef. 4849.3. HPLC: $t_R = 19.9 \text{ min}$ (Gradient 5).

5'-CGGCCA-BBB-CGAGCGGC-3' B = (4-(1,1'-Binaphthyl))dRib 164B₃: Synthese unter Verwendung des Phosphoramidites **147n**. Ausbeute $OD_{260} = 16.4/111 \text{ nmol}$. $C_{200}H_{220}N_{55}O_{89}P_{15}$. $\epsilon_{260 \text{ nm}} = 148300 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. MALDI-TOF: m/z ber. (M-H)⁻ 5281.9 g/mol, gef. 5281.1. HPLC: $t_R = 23.5 \text{ min}$ (Gradient 5).

5'-GCCGCTCG-B-TGCCG-3' B = (4-(1,1'-Binaphthyl))dRib 165B: Synthese unter Verwendung des Phosphoramidites **147n**. Ausbeute $OD_{260} = 23.6/199 \text{ nmol}$.

$C_{149}H_{180}N_{47}O_{83}P_{13}$. $\epsilon_{260\text{ nm}} = 118800\text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. MALDI-TOF: m/z ber. $(M-H)^{-}$ 4359.0 g/mol, gef. 4359.0. HPLC: $t_R = 15.0$ min (Gradient 5).

5'-GCCGCTCG-BB-TGCCG-3' B = (4-(1,1'-Binaphthyl))dRib 165B₂: Synthese unter Verwendung des Phosphoramidites **147n**. Ausbeute $OD_{260} = 25.2/197$ nmol. $C_{174}H_{201}N_{47}O_{88}P_{14}$. $\epsilon_{260\text{ nm}} = 127500\text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. MALDI-TOF: m/z ber. $(M-H)^{-}$ 4791.4 g/mol, gef. 4791.3. HPLC: $t_R = 20.0$ min (Gradient 5).

6.4 Oligonukleotide als Binder an DNA-Methyltransferasen

Fluoreszenz-Daten: Für die Fluoreszenz-Emissions-Spektren wurden $1\mu\text{M}$ Lösungen der Oligonukleotide in entgasten, wässrigen Lösungen von NaCl (100 mM) mit NaH_2PO_4 (10 mM) bei pH 7.0 hergestellt. Die folgenden Einstellungen wurden verwendet: excitation slit 5 nm, emission slit 5 nm, excitation at $\lambda_{\text{EX}}=305$ nm, Emission bei $\lambda_{\text{EM}}=340\text{-}500$ nm, PMT detector voltage bei medium sensitivity, 600 V.

6.5 Binaphthyl – Ein nichtplanares Basensurrogat

Molecular Modeling: Mit dem Programm HyperChem 7.1 wurde der Duplex **164T•165A** in einer Standard-B-Typ-Geometrie erstellt und anschließend zu dem Binaphthyl-haltigen Duplex **164B•165A** modifiziert. Binaphthyl wurde entweder in der syn- oder der anti-Konformation relativ zur 2-Desoxy-D-ribose positioniert und die Naphthyl-Naphthyl-Bindung wurde ebenfalls in der syn- oder der anti-Konformation positioniert, so dass insgesamt 8 mögliche Strukturen resultierten. Alle Basenpaare, außer dem Binaphthyl-Adenin-Basenpaar und die vier umgebenden Basenpaare wurden eingefroren. Die Energie der Duplexe wurde mit der Polak–Ribiere conjugate gradient method und dem Bio+(Charmm) Kraftfeld minimiert. Um mehrfach-substituierte Oligonukleotide zu erhalten, wurden weitere Nukleobasen gegen Binaphthyl ausgetauscht.

Fluoreszenz-Daten: Für die Fluoreszenz-Emissions-Spektren wurden $1\mu\text{M}$ Lösungen der Oligonukleotide in entgasten, wässrigen Lösungen von NaCl (100 mM) mit NaH_2PO_4 (10 mM) bei pH 7.0 hergestellt. Die folgenden Einstellungen wurden verwendet: excitation slit 5 nm, emission slit 5 nm, excitation at $\lambda_{\text{EX}}=305$ nm, Emission bei $\lambda_{\text{EM}}=340\text{--}500$ nm, PMT detector voltage bei medium sensitivity, 600 V.

Die relativen Fluoreszenzdaten wurden mit der folgenden Formel bestimmt:

$$\frac{I}{I_B} = \frac{c_{Oligo} - c_{1a,2a}}{c_{Binaphthyl}} \cdot \frac{F_{Binaphthyl}}{F_{Oligo}} \cdot \frac{\eta_{Water}}{\eta_{Cyclohexane}}$$

A – Absorption

I – gemessene Fluoreszenz.

Enzymatischer Abbau^[180,181] : Der Einzelstrang **156B** (4 nmol) wurde in einem Glasfläschchen bei 37°C in 50 µl einer 0.02 M Diammoniumcitrat über Nacht mit 0.05 U Phosphodiesterase II aus der Kalbsmilz (EC 3.1.16.1, *Sigma*) inkubiert. Anschließend wurden 10 µl einer Lösung von 0.2 M Tris-HCl, 0.1 M MgCl₂, 1M NaCl (pH 9) sowie 5 µl einer alkalischen Phosphatase-Lösung (EC 3.1.3.1; 1 U/ml) zugegeben und für weitere 60 Minuten bei 37°C inkubiert. Die Enzyme wurden für 2h bei 77°C inaktiviert. Aliquote wurden nach Verdünnen auf 50 µl direkt in die HPLC injiziert. Für die analytische HPLC wurde ein Gerät der Serie *Elite LaChrom* der Firma *Merck Hitachi* verwendet. Die Detektion der Signale erfolgte mittels eines Dioden-Array-UV-Detektors bei einer Wellenlänge ($\lambda_{abs} = 260$ nm) und mittels eines Fluoreszenzdetektors (Fluoreszenz-emission bei $\lambda_{em} = 380$ nm, Anregung $\lambda_{ex} = 305$ nm). Die Nukleoside wurden über ihr Absorptionsspektrum zugeordnet. Als Trennsäule diente eine auf 55°C temperierte RP-C18 Säule CC 125/4 *Nucleosil C18Gravity* der Firma *Macherey&Nagel*. Die Flussrate betrug 1 ml/min. Als mobile Phase wurde ein binäres Gemisch aus Wasser (A) und Acetonitril (B) verwendet. Der Gradient war A 0 – 10 min, 3-90% A 10 – 30 min, Spülschritt 30 – 35 min.

Retentionszeiten : dC: $t_R = 4.3$ min, dT: $t_R = 6.3$ min, dG: $t_R = 6.7$ min, dA: $t_R = 8.8$ min, Binaphthylnukleosid **84**: $t_R = 29.3$ min.

7 Literaturverzeichnis

- [1] Herdewijn, Piet (2008): "Modified Nucleosides: in Biochemistry, Biotechnology and Medicine", 1. Auflage, (Editor), Wiley-VCH, Weinheim, ISBN: 3-527-31820-8
- [2] Kool, E. T. (2002): Replacing the nucleobases in DNA with designer molecules, *Accounts of Chemical Research* (Band 35), Nr. 11, Seite 936-943
- [3] Henry, A. A. und Romesberg, F. E. (2003): Beyond A, C, G and T: augmenting nature's alphabet, *Curr. Opin. Chem. Biol.* (Band 7), Nr. 6, Seite 727-733
- [4] Teo, Y. N.; Wilson, J. N. und Kool, E. T. (2009): Polyfluorophores on a DNA Backbone: A Multicolor Set of Labels Excited at One Wavelength, *Journal of the American Chemical Society* (Band 131), Nr. 11, Seite 3923-3933
- [5] Beuck, C.; Singh, I.; Bhattacharya, A.; Heckler, W.; Parmar, V. S.; Seitz, O. und Weinhold, E. (2003): Polycyclic aromatic DNA-Base surrogates: High-affinity binding to an adenine-specific base-flipping DNA methyltransferase, *Angewandte Chemie-International Edition* (Band 42), Nr. 33, Seite 3958-3960
- [6] Zatsepin, T. S.; Stetsenko, D. A.; Gait, M. J. und Oretskaya, T. S. (2005): Use of carbonyl group addition-elimination reactions for synthesis of nucleic acid conjugates, *Bioconjugate Chemistry* (Band 16), Nr. 3, Seite 471-489
- [7] Silverman, A. P. und Kool, E. T. (2006): Detecting RNA and DNA with templated chemical reactions, *Chemical Reviews* (Band 106), Nr. 9, Seite 3775-3789
- [8] Clever, G. H.; Kaul, C. und Carell, T. (2007): DNA-metal base pairs, *Angewandte Chemie-International Edition* (Band 46), Nr. 33, Seite 6226-6236
- [9] Jeltsch, A. (2002): Beyond Watson and Crick: DNA methylation and molecular enzymology of DNA methyltransferases, *ChemBiochem* (Band 3), Nr. 4, Seite 275-293
- [10] Ranasinghe, R. T. und Brown, T. (2005): Fluorescence based strategies for genetic analysis, *Chemical Communications*, Nr. 44, Seite 5487-5502
- [11] Socher, E.; Jarikote, D. V.; Knoll, A.; Roglin, L.; Burmeister, J. und Seitz, O. (2008): FIT probes: Peptide nucleic acid probes with a fluorescent base surrogate enable real-time DNA quantification and single nucleotide polymorphism discovery, *Analytical Biochemistry* (Band 375), Nr. 2, Seite 318-330
- [12] Moran, S.; Ren, R. X. F. und Kool, E. T. (1997): A thymidine triphosphate shape analog lacking Watson-Crick pairing ability is replicated with high sequence selectivity, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* (Band 94), Nr. 20, Seite 10506-10511
- [13] Moran, S.; Ren, R. X. F.; Rumney, S. und Kool, E. T. (1997): Difluorotoluene, a nonpolar isostere for thymine, codes specifically and efficiently for adenine in DNA replication, *Journal of the American Chemical Society* (Band 119), Nr. 8, Seite 2056-2057
- [14] Postema, M. H. D. (1992): Recent Developments in the Synthesis of C-Glycosides, *Tetrahedron* (Band 48), Nr. 40, Seite 8545-8599
- [15] Du, Y. G.; Linhardt, R. J. und Vlahov, I. R. (1998): Recent advances in stereoselective C-glycoside synthesis, *Tetrahedron* (Band 54), Nr. 34, Seite 9913-9959

-
- [16] Adamo, M. F. A. und Pergoli, R. (2008): Synthesis and Medicinal Properties of 2-deoxyribose and ribose C-Nucleosides, *Current Organic Chemistry (Band 12)*, Nr. 18, Seite 1544-1569
- [17] Wu, Q. P. und Simons, C. (2004): Synthetic methodologies for C-nucleosides, *Synthesis-Stuttgart*, Nr. 10, Seite 1533-1553
- [18] Farr, R. N.; Outten, R. A.; Cheng, J. C. Y. und Daves, G. D. (1990): C-Glycoside Synthesis by Palladium-Catalyzed Iodoaglycon Glycal Coupling, *Organometallics (Band 9)*, Nr. 12, Seite 3151-3156
- [19] Zhang, L. G.; Long, H.; Boldt, G. E.; Janda, K. D.; Schatz, G. C. und Lewis, F. D. (2006): α - and β -Stilbenosides as base-pair surrogates in DNA hairpins, *Organic & Biomolecular Chemistry (Band 4)*, Nr. 2, Seite 314-322
- [20] Wellington, K. W. und Benner, S. A. (2006): A review: Synthesis of aryl C-glycosides via the heck coupling reaction, *Nucleosides Nucleotides & Nucleic Acids (Band 25)*, Nr. 12, Seite 1309-1333
- [21] Wichai, U. und Woski, S. A. (1999): Disiloxane-protected 2-deoxyribonolactone as an efficient precursor 1,2-dideoxy-1- β -aryl-D-ribofuranoses, *Organic Letters (Band 1)*, Nr. 8, Seite 1173-1175
- [22] Reese, C. B. und Wu, Q. P. (2003): Conversion of 2-deoxy-D-ribose into 2-amino-5-(2-deoxy- β -D-ribofuranosyl) pyridine, 2'-deoxypseudouridine, and other C-(2'-deoxyribonucleosides), *Organic & Biomolecular Chemistry (Band 1)*, Nr. 18, Seite 3160-3172
- [23] Harusawa, S.; Murai, Y.; Moriyama, H.; Imazu, T.; Ohishi, H.; Yoneda, R. und Kurihara, T. (1996): Efficient and β -stereoselective synthesis of 4(5)-(2-deoxyribofuranosyl)- and 4(5)-(2-deoxyribofuranosyl)imidazoles, *Journal of Organic Chemistry (Band 61)*, Nr. 13, Seite 4405-4411
- [24] Weizman, H. und Tor, Y. (2001): 2,2'-bipyridine ligand: A novel building block for modifying DNA with intra-duplex metal complexes, *Journal of the American Chemical Society (Band 123)*, Nr. 14, Seite 3375-3376
- [25] Hildbrand, S.; Blaser, A.; Parel, S. P. und Leumann, C. J. (1997): 5-substituted 2-aminopyridine C-nucleosides as protonated cytidine equivalents: Increasing efficiency and selectivity in DNA triple-helix formation, *Journal of the American Chemical Society (Band 119)*, Nr. 24, Seite 5499-5511
- [26] Tanaka, K. und Shionoya, M. (1999): Synthesis of a novel nucleoside for alternative DNA base pairing through metal complexation, *Journal of Organic Chemistry (Band 64)*, Nr. 14, Seite 5002-5003
- [27] Brotschi, C.; Mathis, G. und Leumann, C. J. (2005): Bipyridyl- and biphenyl-DNA: A recognition motif based on interstrand aromatic stacking, *Chemistry-a European Journal (Band 11)*, Nr. 6, Seite 1911-1923
- [28] Liu, Haibo; Gao, Jianmin und Kool, Eric T. (2005): Size-Expanded Analogues of dG and dC: Synthesis and Pairing Properties in DNA, *Journal of Organic Chemistry (Band 70)*, Nr. 2, Seite 639-647
- [29] Togo, H.; Ishigami, S.; Fujii, M.; Ikuma, T. und Yokoyama, M. (1994): Synthesis of C-Nucleosides Via Radical Coupling Reaction, *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 1*, Nr. 20, Seite 2931-2942
- [30] Singh, I. und Seitz, O. (2006): Diastereoselective synthesis of β -aryl-C-nucleosides from 1,2-anhydrosugars, *Organic Letters (Band 8)*, Nr. 19, Seite 4319-4322

-
- [31] He, W.; Togo, H.; Waki, Y. und Yokoyama, M. (1998): Application of the versatile character of the tellurium atom for the synthesis of C-nucleoside analogues via sugar tellurides, *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 1*, Nr. 15, Seite 2425-2433
- [32] Aubert, Y. und Asseline, U. (2004): Synthesis and hybridization properties of oligonucleotide perylene conjugates: influence of the conjugation parameters on triplex and duplex stabilities, *Organic & Biomolecular Chemistry* (Band 2), Nr. 23, Seite 3496-3503
- [33] Hatano, A.; Makita, S. und Kirihara, M. (2004): Synthesis and characterization of a DNA analogue stabilized by mercapto C-nucleoside induced disulfide bonding, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* (Band 14), Nr. 10, Seite 2459-2462
- [34] Hainke, S.; Arndt, S. und Seitz, O. (2005): Concise synthesis of aryl-C-nucleosides by Friedel-Crafts alkylation, *Organic & Biomolecular Chemistry* (Band 3), Nr. 23, Seite 4233-4238
- [35] Aketani, S.; Tanaka, K.; Yamamoto, K.; Ishihama, A.; Cao, H. H.; Tengeiji, A.; Hiraoka, S.; Shiro, M. und Shionoya, M. (2002): Syntheses and structure-activity relationships of nonnatural beta-C-nucleoside 5'-triphosphates bearing an aromatic nucleobase with phenolic hydroxy groups: Inhibitory activities against DNA polymerases, *Journal of Medicinal Chemistry* (Band 45), Nr. 25, Seite 5594-5603
- [36] Tanaka, K.; Tasaka, M.; Cao, H. H. und Shionoya, M. (2001): An approach to metal-assisted DNA base pairing: novel beta-C-nucleosides with a 2-aminophenol or a catechol as the nucleobase, *European Journal of Pharmaceutical Sciences* (Band 13), Nr. 1, Seite 77-83
- [37] Schweitzer, B. A. und Kool, E. T. (1994): Aromatic Nonpolar Nucleosides as Hydrophobic Isosteres of Pyrimidine and Purine Nucleosides, *Journal of Organic Chemistry* (Band 59), Nr. 24, Seite 7238-7242
- [38] Chaudhuri, N. C. und Kool, E. T. (1995): An Efficient Method for the Synthesis of Aromatic C-Nucleosides (Vol 36, Pg 1795, 1995), *Tetrahedron Letters* (Band 36), Nr. 28, Seite 4910-4910
- [39] Ren, R. X. F.; Chaudhuri, N. C.; Paris, P. L.; Rumney, S. und Kool, E. T. (1996): Naphthalene, phenanthrene, and pyrene as DNA base analogues: Synthesis, structure, and fluorescence in DNA, *Journal of the American Chemical Society* (Band 118), Nr. 33, Seite 7671-7678
- [40] Tilquin, J. M.; Dechamps, M. und Sonveaux, E. (2001): Incorporation of an aldehyde function in oligonucleotides, *Bioconjugate Chemistry* (Band 12), Nr. 3, Seite 451-457
- [41] Pirrung, M. C.; Zhao, X. D. und Harris, S. V. (2001): A universal, photocleavable DNA base: Nitropiperonyl 2'-deoxyribose, *Journal of Organic Chemistry* (Band 66), Nr. 6, Seite 2067-2071
- [42] Griesang, N. und Richert, C. (2002): Oligonucleotides containing a nucleotide analog with an ethynylfluorobenzene as nucleobase surrogate, *Tetrahedron Letters* (Band 43), Nr. 48, Seite 8755-8758
- [43] Chen, D. W.; Beuscher, A. E.; Stevens, R. C.; Wirsching, P.; Lerner, R. A. und Janda, K. D. (2001): Preparation of stilbene-tethered nonnatural nucleosides for use with blue-fluorescent antibodies, *Journal of Organic Chemistry* (Band 66), Nr. 5, Seite 1725-1732

-
- [44] Hocek, M.; Pohl, R. und Klepetarova, B. (2005): A new modular and practical methodology for the synthesis of 4-or 3-substituted phenyl C-nucleosides, *European Journal of Organic Chemistry*, Nr. 21, Seite 4525-4528
- [45] Jiang, Y. L. und Stivers, J. T. (2003): Efficient epimerization of pyrene and other aromatic C-nucleosides with trifluoroacetic acid in dichloromethane, *Tetrahedron Letters* (Band 44), Nr. 1, Seite 85-88
- [46] Jiang, Y. L. und Stivers, J. T. (2003): Novel epimerization of aromatic C-nucleosides with electron-withdrawing substituents with trifluoroacetic acid-benzenesulfonic acid using mild conditions, *Tetrahedron Letters* (Band 44), Nr. 21, Seite 4051-4055
- [47] Clever, G. H.; Soltl, Y.; Burks, H.; Spahl, W. und Carell, T. (2006): Metal-salen-base-pair complexes inside DNA: Complexation overrides sequence information, *Chemistry-a European Journal* (Band 12), Nr. 34, Seite 8708-8718
- [48] Hainke, Sven (2004): Diplomarbeit: Neue Synthesen von 1-Pyrenylnukleosid, Humboldt-Universität zu Berlin
- [49] Bihovsky, R.; Selić, C. und Giusti, I. (1988): Synthesis of C-Glucosides by Reactions of Glucosyl Halides with Organocuprates, *Journal of Organic Chemistry* (Band 53), Nr. 17, Seite 4026-4031
- [50] Piccirilli, J. A.; Krauch, T.; Moroney, S. E. und Benner, S. A. (1990): Enzymatic Incorporation of a New Base Pair into DNA and Rna Extends the Genetic Alphabet, *Nature* (Band 343), Nr. 6253, Seite 33-37
- [51] Miller, T. R.; Alley, S. C.; Reese, A. W.; Solomon, M. S.; McCallister, W. V.; Mailer, C.; Robinson, B. H. und Hopkins, P. B. (1995): A Probe for Sequence-Dependent Nucleic-Acid Dynamics, *Journal of the American Chemical Society* (Band 117), Nr. 36, Seite 9377-9378
- [52] Guckian, K. M.; Schweitzer, B. A.; Ren, R. X. F.; Sheils, C. J.; Paris, P. L.; Tahmassebi, D. C. und Kool, E. T. (1996): Experimental measurement of aromatic stacking affinities in the context of duplex DNA, *Journal of the American Chemical Society* (Band 118), Nr. 34, Seite 8182-8183
- [53] Matray, T. J. und Kool, E. T. (1998): Selective and stable DNA base pairing without hydrogen bonds, *Journal of the American Chemical Society* (Band 120), Nr. 24, Seite 6191-6192
- [54] Matray, T. J. und Kool, E. T. (1999): A specific partner for abasic damage in DNA, *Nature* (Band 399), Nr. 6737, Seite 704-708
- [55] Lan, T. und McLaughlin, L. W. (2001): Minor groove functional groups are critical for the B-form conformation of duplex DNA, *Biochemistry* (Band 40), Nr. 4, Seite 968-976
- [56] Meena; Sun, Z. H.; Mulligan, C. und McLaughlin, L. W. (2006): Removal of a single minor-groove functional group eliminates A-tract curvature, *Journal of the American Chemical Society* (Band 128), Nr. 36, Seite 11756-11757
- [57] Sun, Z. und McLaughlin, L. W. (2007): Probing the nature of three-centered hydrogen bonds in minor-groove ligand-DNA interactions: The contribution of fluorine hydrogen bonds to complex stability, *Journal of the American Chemical Society* (Band 129), Nr. 41, Seite 12531-12536
- [58] Lai, J. S. und Kool, E. T. (2004): Selective pairing of polyfluorinated DNA bases, *Journal of the American Chemical Society* (Band 126), Nr. 10, Seite 3040-3041

-
- [59] Hari, Y.; Hwang, G. T.; Leconte, A. M.; Joubert, N.; Hock, M. und Romesberg, F. E. (2008): Optimization of the Pyridyl Nucleobase Scaffold for Polymerase Recognition and Unnatural Base Pair Replication, *Chembiochem* (Band 9), Nr. 17, Seite 2796-2799
- [60] Yang, Z. Y.; Sismour, A. M.; Sheng, P. P.; Puskar, N. L. und Benner, S. A. (2007): Enzymatic incorporation of a third nucleobase pair, *Nucleic Acids Research* (Band 35), Nr. 13, Seite 4238-4249
- [61] Matsuda, S. und Romesberg, F. E. (2004): Optimization of interstrand hydrophobic packing interactions within unnatural DNA base pairs, *Journal of the American Chemical Society* (Band 126), Nr. 44, Seite 14419-14427
- [62] Clever, G. H. und Carell, T. (2007): Controlled stacking of 10 transition-metal ions inside a DNA duplex, *Angewandte Chemie-International Edition* (Band 46), Nr. 1-2, Seite 250-253
- [63] Brotschi, C. und Leumann, C. J. (2003): DNA with hydrophobic base substitutes: A stable, zipperlike recognition motif based on interstrand-stacking interactions, *Angewandte Chemie-International Edition* (Band 42), Nr. 14, Seite 1655-1658
- [64] Johar, Z.; Zahn, A.; Leumann, C. J. und Jaun, B. (2008): Solution structure of a DNA duplex containing a biphenyl pair, *Chemistry-a European Journal* (Band 14), Nr. 4, Seite 1080-1086
- [65] Kaufmann, M.; Gisler, M. und Leumann, C. J. (2009): Stable Cyclohexyl-Phenyl Recognition in the Center of a DNA Duplex, *Angewandte Chemie-International Edition* (Band 48), Nr. 21, Seite 3810-3813
- [66] Wilson, J. N. und Kool, E. T. (2006): Fluorescent DNA base replacements: reporters and sensors for biological systems, *Organic & Biomolecular Chemistry* (Band 4), Nr. 23, Seite 4265-4274
- [67] Gao, J. M.; Strässler, C.; Tahmassebi, D. und Kool, E. T. (2002): Libraries of composite polyfluors built from fluorescent deoxyribosides, *Journal of the American Chemical Society* (Band 124), Nr. 39, Seite 11590-11591
- [68] Gao, J. M.; Watanabe, S. und Kool, E. T. (2004): Modified DNA analogues that sense light exposure with color changes, *Journal of the American Chemical Society* (Band 126), Nr. 40, Seite 12748-12749
- [69] Wilson, J. N.; Teo, Y. N. und Kool, E. T. (2007): Efficient quenching of oligomeric fluorophores on a DNA backbone, *Journal of the American Chemical Society* (Band 129), Nr. 50, Seite 15426-15427
- [70] Wilson, J. N.; Cho, Y. J.; Tan, S.; Cuppoletti, A. und Kool, E. T. (2008): Quenching of fluorescent nucleobases by neighboring DNA: The "Insulator" concept, *Chembiochem* (Band 9), Nr. 2, Seite 279-285
- [71] Bouquin, N.; Malinovskii, V. L. und Häner, R. (2008): Highly efficient quenching of excimer fluorescence by perylene diimide in DNA, *Chemical Communications*, Nr. 17, Seite 1974-1976
- [72] Grigorenko, N. A. und Leumann, C. J. (2008): Electron transfer through a stable phenanthrenyl pair in DNA, *Chemical Communications*, Nr. 42, Seite 5417-5419
- [73] Somoza, M. M.; Andreatta, D.; Murphy, C. J.; Coleman, R. S. und Berg, M. A. (2004): Effect of lesions on the dynamics of DNA on the picosecond and nanosecond timescales using a polarity sensitive probe, *Nucleic Acids Research* (Band 32), Nr. 8, Seite 2494-2507

-
- [74] Li, J. S.; Chen, F. X.; Shikiya, R.; Marky, L. A. und Gold, B. (2005): Molecular recognition via triplex formation of mixed purine/pyrimidine DNA sequences using oligoTRIPs, *Journal of the American Chemical Society* (Band 127), Nr. 36, Seite 12657-12665
- [75] Lu, M.; Campbell, J. L.; Boye, E. und Kleckner, N. (1994): SeqA - a Negative Modulator of Replication Initiation in *Escherichia-Coli*, *Cell* (Band 77), Nr. 3, Seite 413-426
- [76] Kang, S.; Lee, H.; Han, J. S. und Hwang, D. S. (1999): Interaction of SeqA and Dam methylase on the hemimethylated origin of *Escherichia coli* chromosomal DNA replication, *Journal of Biological Chemistry* (Band 274), Nr. 17, Seite 11463-11468
- [77] Bird, A. (2002): DNA methylation patterns and epigenetic memory, *Genes & Development* (Band 16), Nr. 1, Seite 6-21
- [78] Suzuki, M. M. und Bird, A. (2008): DNA methylation landscapes: provocative insights from epigenomics, *Nature Reviews Genetics* (Band 9), Nr. 6, Seite 465-476
- [79] Sasaki, H. und Matsui, Y. (2008): Epigenetic events in mammalian germ-cell development: reprogramming and beyond, *Nature Reviews Genetics* (Band 9), Nr. 2, Seite 129-140
- [80] Shiota, K. (2004): DNA methylation profiles of CpG islands for cellular differentiation and development in mammals, *Cytogenetic and Genome Research* (Band 105), Nr. 2-4, Seite 325-334
- [81] Robertson, K. D. (2005): DNA methylation and human disease, *Nature Reviews Genetics* (Band 6), Nr. 8, Seite 597-610
- [82] Low, D. A.; Weyand, N. J. und Mahan, M. J. (2001): Roles of DNA adenine methylation in regulating bacterial gene expression and virulence, *Infection and Immunity* (Band 69), Nr. 12, Seite 7197-7204
- [83] Portillo, F. G. D.; Pucciarelli, M. G. und Casadesus, J. (1999): DNA adenine methylase mutants of *Salmonella typhimurium* show defects in protein secretion, cell invasion, and M cell cytotoxicity, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* (Band 96), Nr. 20, Seite 11578-11583
- [84] Heithoff, D. M.; Sinsheimer, R. L.; Low, D. A. und Mahan, M. J. (1999): An essential role for DNA adenine methylation in bacterial virulence, *Science* (Band 284), Nr. 5416, Seite 967-970
- [85] Watson, M. E.; Jarisch, J. und Smith, A. L. (2004): Inactivation of deoxyadenosine methyltransferase (dam) attenuates *Haemophilus influenzae* virulence, *Molecular Microbiology* (Band 53), Nr. 2, Seite 651-664
- [86] Dueger, E. L.; House, J. K.; Heithoff, D. M. und Mahan, M. J. (2001): *Salmonella* DNA adenine methylase mutants elicit protective immune responses to homologous and heterologous serovars in chickens, *Infection and Immunity* (Band 69), Nr. 12, Seite 7950-7954
- [87] Chen, L.; Paulsen, D. B.; Scruggs, D. W.; Banes, M. M.; Reeks, B. Y. und Lawrence, M. L. (2003): Alteration of DNA adenine methylase (Dam) activity in *Pasteurella multocida* causes increased spontaneous mutation frequency and attenuation in mice, *Microbiology-Sgm* (Band 149), Seite 2283-2290
- [88] Stephens, C.; Reisenauer, A.; Wright, R. und Shapiro, L. (1996): A cell cycle-regulated bacterial DNA methyltransferase is essential for viability, *Proceedings of the*

- National Academy of Sciences of the United States of America (Band 93), Nr. 3, Seite 1210-1214
- [89] Robertson, G. T.; Reisenauer, A.; Wright, R.; Jensen, R. B.; Jensen, A.; Shapiro, L. und Roop, R. M. (2000): The *Brucella abortus* CcrM DNA methyltransferase is essential for viability, and its overexpression attenuates intracellular replication in murine macrophages, *Journal of Bacteriology* (Band 182), Nr. 12, Seite 3482-3489
- [90] Seite <http://rebase.neb.com/rebase/>
- [91] Goedecke, K.; Pignot, M.; Goody, R. S.; Scheidig, A. J. und Weinhold, E. (2001): Structure of the N6-adenine DNA methyltransferase M center dot TaqI in complex with DNA and a cofactor analog, *Nature Structural Biology* (Band 8), Nr. 2, Seite 121-125
- [92] Klimasauskas, S.; Kumar, S.; Roberts, R. J. und Cheng, X. D. (1994): HhaI Methyltransferase Flips Its Target Base out of the DNA Helix, *Cell* (Band 76), Nr. 2, Seite 357-369
- [93] Reinisch, K. M.; Chen, L.; Verdine, G. L. und Lipscomb, W. N. (1995): The Crystal-Structure of HaeIII Methyltransferase Covalently Complexed to DNA - an Extrahelical Cytosine and Rearranged Base-Pairing, *Cell* (Band 82), Nr. 1, Seite 143-153
- [94] Horton, J. R.; Liebert, K.; Bekes, M.; Jeltsch, A. und Cheng, X. D. (2006): Structure and substrate recognition of the *Escherichia coli* DNA adenine methyltransferase, *Journal of Molecular Biology* (Band 358), Nr. 2, Seite 559-570
- [95] Horton, J. R.; Liebert, K.; Hattman, S.; Jeltsch, A. und Cheng, X. D. (2005): Transition from nonspecific to specific DNA interactions along the substrate-recognition pathway of Dam methyltransferase, *Cell* (Band 121), Nr. 3, Seite 349-361
- [96] Jeltsch, A.; Roth, M. und Friedrich, T. (1999): Mutational analysis of target base flipping by the EcoRV adenine-N-6 DNA methyltransferase, *Journal of Molecular Biology* (Band 285), Nr. 3, Seite 1121-1130
- [97] Liebert, K.; Hermann, A.; Schlickerrieder, M. und Jeltsch, A. (2004): Stopped-flow and mutational analysis of base flipping by the *Escherichia coli* dam DNA-(adenine-N6)-methyltransferase, *Journal of Molecular Biology* (Band 341), Nr. 2, Seite 443-454
- [98] Holz, B.; Klimasauskas, S.; Serva, S. und Weinhold, E. (1998): 2-Aminopurine as a fluorescent probe for DNA base flipping by methyltransferases, *Nucleic Acids Research* (Band 26), Nr. 4, Seite 1076-1083
- [99] Roth, M.; Helm-Kruse, S.; Friedrich, T. und Jeltsch, A. (1998): Functional roles of conserved amino acid residues in DNA methyltransferases investigated by site-directed mutagenesis of the EcoRV adenine-N-6-methyltransferase, *Journal of Biological Chemistry* (Band 273), Nr. 28, Seite 17333-17342
- [100] Pues, H.; Bleimling, N.; Holz, B.; Wolcke, J. und Weinhold, E. (1999): Functional roles of the conserved aromatic amino acid residues at position 108 (motif IV) and position 196 (motif VIII) in base flipping and catalysis by the N6-adenine DNA methyltransferase from *Thermus aquaticus*, *Biochemistry* (Band 38), Nr. 5, Seite 1426-1434
- [101] Christman, J. K. (2002): 5-Azacytidine and 5-aza-2'-deoxycytidine as inhibitors of DNA methylation: mechanistic studies and their implications for cancer therapy, *Oncogene* (Band 21), Nr. 35, Seite 5483-5495
- [102] Allan, B. W. und Reich, N. O. (1996): Targeted base stacking disruption by the EcoRI DNA methyltransferase, *Biochemistry* (Band 35), Nr. 47, Seite 14757-14762

-
- [103] Malygin, E. G.; Evdokimov, A. A.; Zinoviev, V. V.; Ovechkina, L. G.; Lindstrom, W. M.; Reich, N. O.; Schlagman, S. L. und Hattman, S. (2001): A dual role for substrate S-adenosyl-L-methionine in the methylation reaction with bacteriophage T4 Dam DNA-[N6-adenine]-methyltransferase, *Nucleic Acids Research* (Band 29), Nr. 11, Seite 2361-2369
- [104] Guéron, M. und Leroy, J. L. (1995): Studies of base pair kinetics by NMR measurement of proton exchange, *Methods in Enzymology* (Band 261), Seite 383–413
- [105] Liebert, K.; Horton, J. R.; Chahar, S.; Orwick, M.; Cheng, X. D. und Jeltsch, A. (2007): Two alternative conformations of S-Adenosyl-L-homocysteine bound to *Escherichia coli* DNA adenine methyltransferase and the implication of conformational changes in regulating the catalytic cycle, *Journal of Biological Chemistry* (Band 282), Nr. 31, Seite 22848-22855
- [106] Lenz, T.; Bonnist, E. Y. M.; Pljevaljcic, G.; Neely, R. K.; Dryden, D. T. F.; Scheidig, A. J.; Jones, A. C. und Weinhold, E. (2007): 2-Aminopurine flipped into the active site of the adenine-specific DNA methyltransferase M.TaqI: Crystal structures and time-resolved fluorescence, *Journal of the American Chemical Society* (Band 129), Nr. 19, Seite 6240-6248
- [107] Neely, R. K.; Daujotyte, D.; Grazulis, S.; Magennis, S. W.; Dryden, D. T. F.; Klimasauskas, S. und Jones, A. C. (2005): Time-resolved fluorescence of 2-aminopurine as a probe of base flipping in M.HhaI-DNA complexes, *Nucleic Acids Research* (Band 33), Nr. 22, Seite 6953-6960
- [108] Santi, D. V.; Norment, A. und Garrett, C. E. (1984): Covalent Bond Formation between a DNA-Cytosine Methyltransferase and DNA Containing 5-Azacytosine, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America-Biological Sciences* (Band 81), Nr. 22, Seite 6993-6997
- [109] Jüttermann, R.; Li, E. und Jaenisch, R. (1994): Toxicity of 5-Aza-2'-Deoxycytidine to Mammalian-Cells Is Mediated Primarily by Covalent Trapping of DNA Methyltransferase Rather Than DNA Demethylation, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* (Band 91), Nr. 25, Seite 11797-11801
- [110] Momparler, R. L. und Bovenzi, V. (2000): DNA methylation and cancer, *Journal of Cellular Physiology* (Band 183), Nr. 2, Seite 145-154
- [111] Stresemann, C.; Brueckner, B.; Musch, T.; Stopper, H. und Lyko, F. (2006): Functional diversity of DNA methyltransferase inhibitors in human cancer cell lines., *Cancer Research* (Band 66), Nr. 5, Seite 2794-2800
- [112] Brueckner, B.; Boy, R. G.; Siedlecki, P.; Musch, T.; Kliem, H. C.; Zielenkiewicz, P.; Suhai, S.; Wiessler, M. und Lyko, F. (2005): Epigenetic reactivation of tumor suppressor genes by a novel small-molecule inhibitor of human DNA methyltransferases, *Cancer Research* (Band 65), Nr. 14, Seite 6305-6311
- [113] Wahnon, D. C.; Shier, V. K. und Benkovic, S. J. (2001): Mechanism-based inhibition of an essential bacterial adenine DNA methyltransferase: Rationally designed antibiotics, *Journal of the American Chemical Society* (Band 123), Nr. 5, Seite 976-977
- [114] Naumann, T. A.; Tavassoli, A. und Benkovic, S. J. (2008): Genetic selection of cyclic peptide dam methyltransferase inhibitors, *Chembiochem* (Band 9), Nr. 2, Seite 194-197

- [115] JacksonGrusby, L.; Laird, P. W.; Magge, S. N.; Moeller, B. J. und Jaenisch, R. (1997): Mutagenicity of 5-aza-2'-deoxycytidine is mediated by the mammalian DNA methyltransferase, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* (Band 94), Nr. 9, Seite 4681-4685
- [116] Osterman, D. G.; Depillis, G. D.; Wu, J. C.; Matsuda, A. und Santi, D. V. (1988): 5-Fluorocytosine in DNA Is a Mechanism-Based Inhibitor of Hhai Methylase, *Biochemistry* (Band 27), Nr. 14, Seite 5204-5210
- [117] Chen, L.; Macmillan, A. M.; Chang, W.; Ezaznikpay, K.; Lane, W. S. und Verdine, G. L. (1991): Direct Identification of the Active-Site Nucleophile in a DNA (Cytosine-5)-Methyltransferase, *Biochemistry* (Band 30), Nr. 46, Seite 11018-11025
- [118] Sheikhnjad, G.; Brank, A.; Christman, J. K.; Goddard, A.; Alvarez, E.; Ford, H.; Marquez, V. E.; Marasco, C. J.; Sufrin, J. R.; O'Gara, M. und Cheng, X. D. (1999): Mechanism of inhibition of DNA (cytosine C5)-methyltransferases by oligodeoxyribonucleotides containing 5,6-dihydro-5-azacytosine, *Journal of Molecular Biology* (Band 285), Nr. 5, Seite 2021-2034
- [119] Brank, A. S.; Eritja, R.; Garcia, R. G.; Marquez, V. E. und Christman, J. K. (2002): Inhibition of HhaI DNA (cytosine-C5) methyltransferase by oligodeoxyribonucleotides containing 5-aza-2'-deoxycytidine: Examination of the intertwined roles of co-factor, target, transition state structure and enzyme conformation, *Journal of Molecular Biology* (Band 323), Nr. 1, Seite 53-67
- [120] Kuch, D.; Schermelleh, L.; Manetto, S.; Leonhardt, H. und Carell, T. (2008): Synthesis of DNA dumbbell based inhibitors for the human DNA methyltransferase Dnmt1, *Angewandte Chemie-International Edition* (Band 47), Nr. 8, Seite 1515-1518
- [121] Shigdel, U. K. und He, C. (2008): A New 1'-Methylenedisulfide Deoxyribose that Forms an Efficient Cross-link to DNA Cytosine-5 Methyltransferase (DNMT), *Journal of the American Chemical Society* (Band 130), Nr. 52, Seite 17634-+
- [122] Huang, H. und Greenberg, M. M. (2008): Hydrogen bonding contributes to the selectivity of nucleotide incorporation opposite an oxidized abasic lesion, *Journal of the American Chemical Society* (Band 130), Nr. 19, Seite 6080-+
- [123] Sekino, Y.; Bruner, S. D. und Verdine, G. L. (2000): Selective inhibition of herpes simplex virus type-1 uracil-DNA glycosylase by designed substrate analogs, *Journal of Biological Chemistry* (Band 275), Nr. 47, Seite 36506-36508
- [124] Krosky, D. J.; Song, F. H. und Stivers, J. T. (2005): The origins of high-affinity enzyme binding to an extrahelical DNA base, *Biochemistry* (Band 44), Nr. 16, Seite 5949-5959
- [125] Jiang, Y. L.; Kwon, K. und Stivers, J. T. (2001): Turning on uracil-DNA glycosylase using a pyrene nucleotide switch, *Journal of Biological Chemistry* (Band 276), Nr. 45, Seite 42347-42354
- [126] Singh, I.; Hecker, W.; Prasad, A. K.; Virinder, S. P. A. und Seitz, O. (2002): Local disruption of DNA-base stacking by bulky base surrogates, *Chemical Communications*, Nr. 5, Seite 500-501
- [127] Malinovskii, V. L.; Samain, F. und Häner, R. (2007): Helical arrangement of interstrand stacked pyrenes in a DNA framework, *Angewandte Chemie-International Edition* (Band 46), Nr. 24, Seite 4464-4467

-
- [128] Grigorenko, N. A. und Leumann, C. J. (2009): 2-Phenanthrenyl-DNA: Synthesis, Pairing, and Fluorescence Properties, *Chemistry-a European Journal* (Band 15), Nr. 3, Seite 639-645
- [129] Mayer-Enthart, E. und Wagenknecht, H. A. (2006): Structure-sensitive and self-assembled helical pyrene array based on DNA architecture, *Angewandte Chemie-International Edition* (Band 45), Nr. 20, Seite 3372-3375
- [130] Astakhova, I. V.; Korshun, V. A.; Jahn, K.; Kjems, J. und Wengel, J. (2008): Perylene Attached to 2'-Amino-LNA: Synthesis, Incorporation into Oligonucleotides, and Remarkable Fluorescence Properties in Vitro and in Cell Culture, *Bioconjugate Chemistry* (Band 19), Nr. 10, Seite 1995-2007
- [131] Zahn, A. und Leumann, C. J. (2008): Recognition properties of donor- and acceptor-modified biphenyl-DNA, *Chemistry-a European Journal* (Band 14), Nr. 4, Seite 1087-1094
- [132] Canonica, S. und Wild, U. P. (1991): Fluorescence Kinetics of 1,1'-Binaphthyl in Fluid and Rigid Solution, *Journal of Physical Chemistry* (Band 95), Nr. 17, Seite 6535-6540
- [133] Zhan, Xiaowei; Wang, Shuai; Liu, Yunqi; Wu, Xia und Zhu, Daoben (2003): New Series of Blue-Emitting and Electron-Transporting Copolymers Based on Cyanostilbene, *Chem. Mater.* (Band 15), Seite 1963-1969
- [134] Grein, F. (2002): Twist angles and rotational energy barriers of biphenyl and substituted biphenyls, *Journal of Physical Chemistry A* (Band 106), Nr. 15, Seite 3823-3827
- [135] Meyer, E. A.; Castellano, R. K. und Diederich, F. (2003): Interactions with aromatic rings in chemical and biological recognition, *Angewandte Chemie-International Edition* (Band 42), Nr. 11, Seite 1210-1250
- [136] Harrowven, D. C.; Guy, I. L. und Nanson, L. (2006): Efficient phenanthrene, helicene, and azahelicene syntheses, *Angewandte Chemie-International Edition* (Band 45), Nr. 14, Seite 2242-2245
- [137] Wood, C. S. und Mallory, F. B. (1964): Photochemistry of Stilbenes .4. Preparation of Substituted Phenanthrenes, *Journal of Organic Chemistry* (Band 29), Nr. 11, Seite 3373-&
- [138] Scherf, U. und Müllen, K. (1992): Design and Synthesis of Extended Pi-Systems - Monomers, Oligomers, Polymers, *Synthesis*, Nr. 1-2, Seite 23-38
- [139] Neenan, T. X. und Whitesides, G. M. (1988): Synthesis of High-Carbon Materials from Acetylenic Precursors - Preparation of Aromatic Monomers Bearing Multiple Ethynyl Groups, *Journal of Organic Chemistry* (Band 53), Nr. 11, Seite 2489-2496
- [140] Wipf, P. und Methot, J. L. (2000): Total synthesis and stereochemical revision of (+)-aeruginosin 298-A, *Organic Letters* (Band 2), Nr. 26, Seite 4213-4216
- [141] Terfort, A.; Görls, H. und Brunner, H. (1997): The first helical-chiral phosphane ligands: rac-[5]- and rac-[6]-Heliphos, *Synthesis-Stuttgart*, Nr. 1, Seite 79-&
- [142] House, H. O.; Koepsell, D. und Jaeger, W. (1973): Derivatives of 1,8-Diphenylanthracene, *Journal of Organic Chemistry* (Band 38), Nr. 6, Seite 1167-1173
- [143] Coleman, R. S. und Mortensen, M. A. (2003): Stereocontrolled synthesis of anthracene beta-C-ribosides: fluorescent probes for photophysical studies of DNA, *Tetrahedron Letters* (Band 44), Nr. 6, Seite 1215-1219

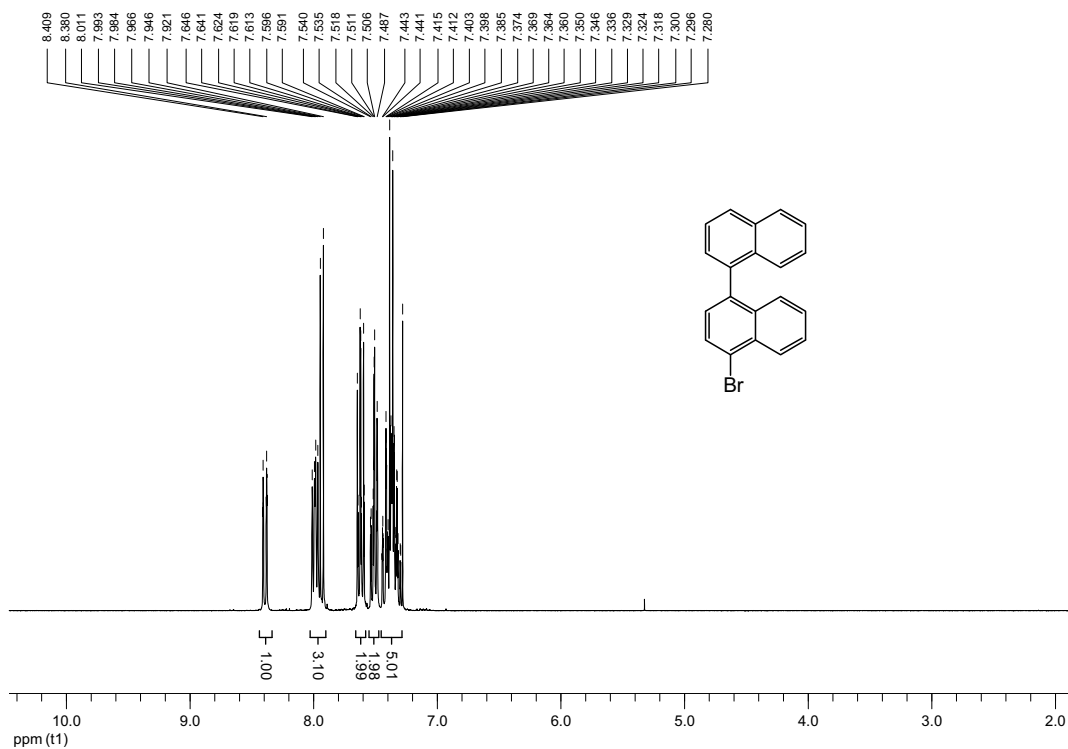
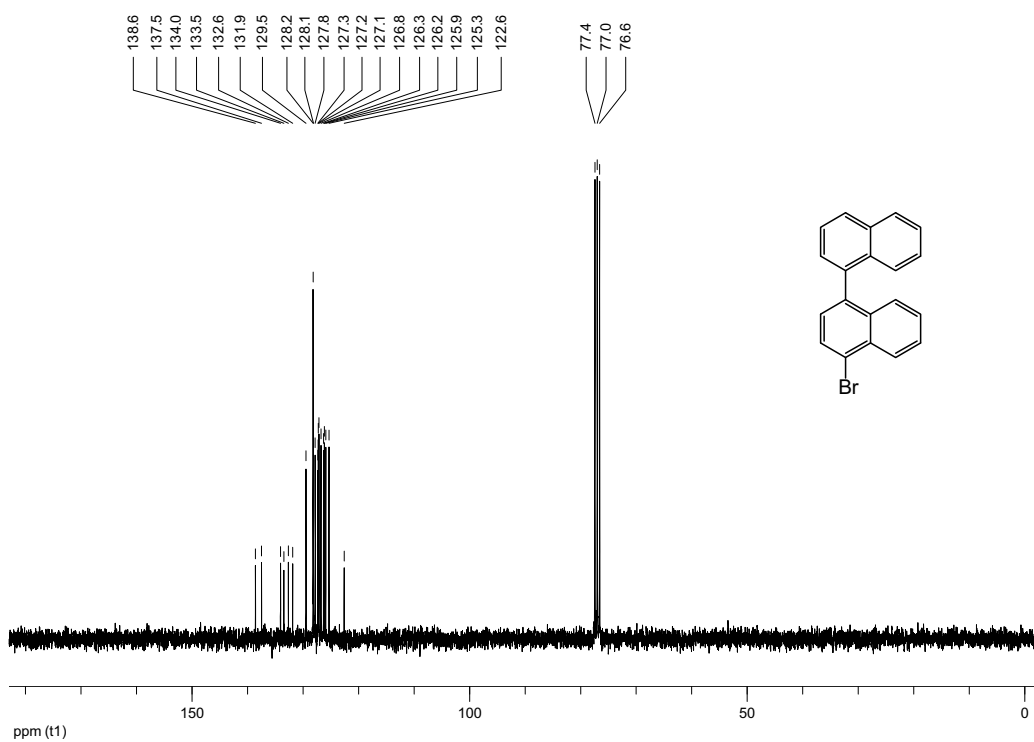
- [144] Shionoya, M. und Tanaka, K. (2000): Synthetic incorporation of metal complexes into nucleic acids and peptides directed toward functionalized molecules, *Bulletin of the Chemical Society of Japan* (Band 73), Nr. 9, Seite 1945-1954
- [145] Wanninger, C. und Wagenknecht, H. A. (2006): Indole as an artificial DNA base incorporated via an acyclic 2'-deoxyribose substitute, *Synlett*, Nr. 13, Seite 2051-2054
- [146] Hoffer, M. (1960): Alpha-Thymidin, *Chemische Berichte-Recueil* (Band 93), Nr. 12, Seite 2777-2781
- [147] Rolland, V.; Kotera, M. und Lhomme, J. (1997): Convenient preparation of 2-deoxy-3,5-di-O-p-toluoyl-alpha-D-erythro-pentofuranosyl chloride, *Synthetic Communications* (Band 27), Nr. 20, Seite 3505-3511
- [148] Dhimitruka, I. und SantaLucia, J. (2004): Efficient preparation of 2-deoxy-3,5-di-O-p-toluoyl-alpha-D-ribofuranosyl chloride, *Synlett*, Nr. 2, Seite 335-337
- [149] Barbaric, J.; Wanninger-Weiss, C. und Wagenknecht, H. A. (2009): Indole in DNA: Comparison of a Nucleosidic with a Non-Nucleosidic DNA Base Substitution, *European Journal of Organic Chemistry*, Nr. 3, Seite 364-370
- [150] Krause, N. (2002): *Modern Organocopper Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, ISBN: 978-3527297733
- [151] Taylor, R. J. K. (1994): *Organocopper Regents*, Oxford University Press, Oxford, ISBN: 978-0-19-855758-6
- [152] Lipshutz, Bruce H. und Sengupta, Saumitra (1992): *Organocopper Reagents: Substitution, Conjugate Addition, Carbo/Metallocupration, and Other Reactions* (Band 41), *Organic Reactions*, John Wiley and Sons, Inc.
- [153] Bogdanovic, B.; Janke, N. und Kinzelmann, H. G. (1990): Magnesium Anthracene Systems .6. Use of Magnesium Anthracene.3thf in Synthesis - Generation of Grignard Compounds and Other Reactions with Organic Halides, *Chemische Berichte* (Band 123), Nr. 7, Seite 1507-1515
- [154] Urban, M.; Pohl, R.; Klepetarova, B. und Hock, M. (2006): New modular and efficient approach to 6-substituted pyridin-2-yl C-nucleosides, *Journal of Organic Chemistry* (Band 71), Nr. 19, Seite 7322-7328
- [155] Spivey, A. C.; Shukla, L. und Hayler, J. F. (2007): Conjugate addition of 2- and 4-pyridylcuprates: An expeditious asymmetric synthesis of natural (-)-evoninic acid, *Organic Letters* (Band 9), Nr. 5, Seite 891-894
- [156] Gold, A. und Sangaiah, R. (1990): 1,3,5-Tri-O-Acetyl-2-Deoxy-Alpha,Beta-D-Erythro-Pentofuranose from 2-Deoxy-D-Erythro-Pentose, *Nucleosides & Nucleotides* (Band 9), Nr. 7, Seite 907-912
- [157] Yoshimura, Y.; Ito, Y. und Fujimoto, K. (2005): Interstrand photocrosslinking of DNA via p-carbamoylvinyl phenol nucleoside, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* (Band 15), Nr. 5, Seite 1299-1301
- [158] Gotta, M. F. und Mayr, H. (1998): Kinetics of the Friedel-Crafts alkylations of heterocyclic arenes: Comparison of the nucleophilic reactivities of aromatic and nonaromatic pi-systems, *Journal of Organic Chemistry* (Band 63), Nr. 26, Seite 9769-9775
- [159] Ila, H.; Baron, O.; Wagner, A. J. und Knochel, P. (2006): Functionalized magnesium organometallics as versatile intermediates for the synthesis of polyfunctional heterocycles, *Chem. Commun.*, Nr. 6, Seite 583-593

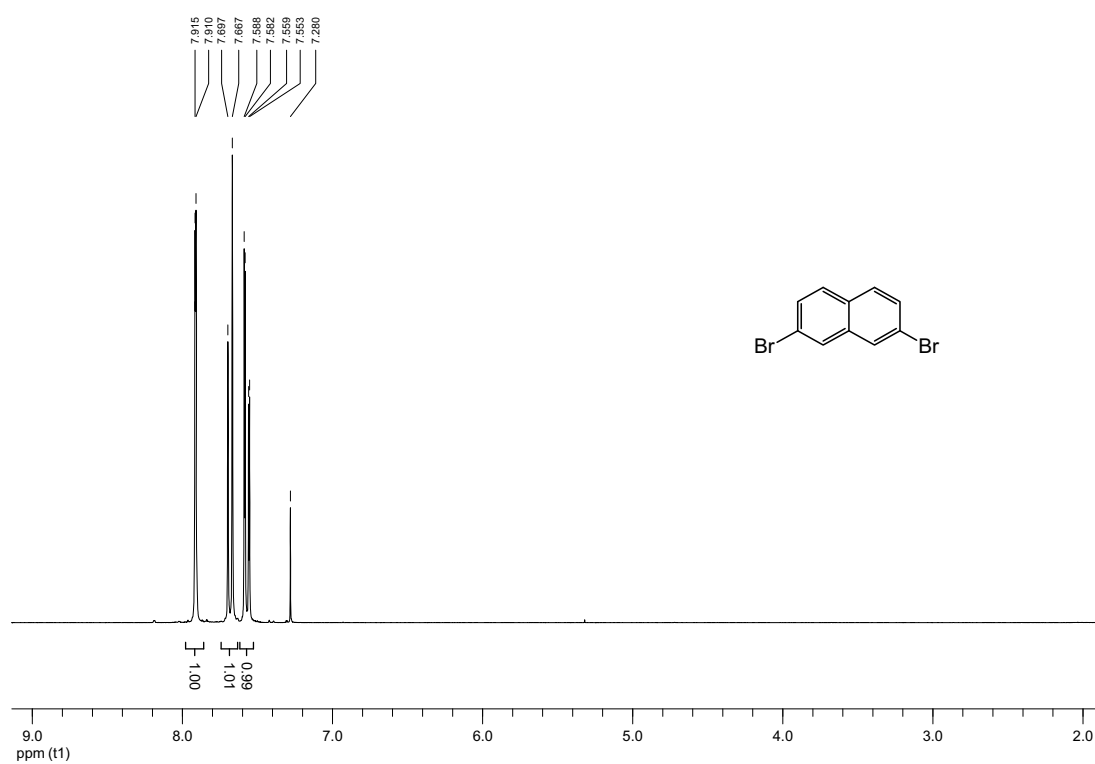
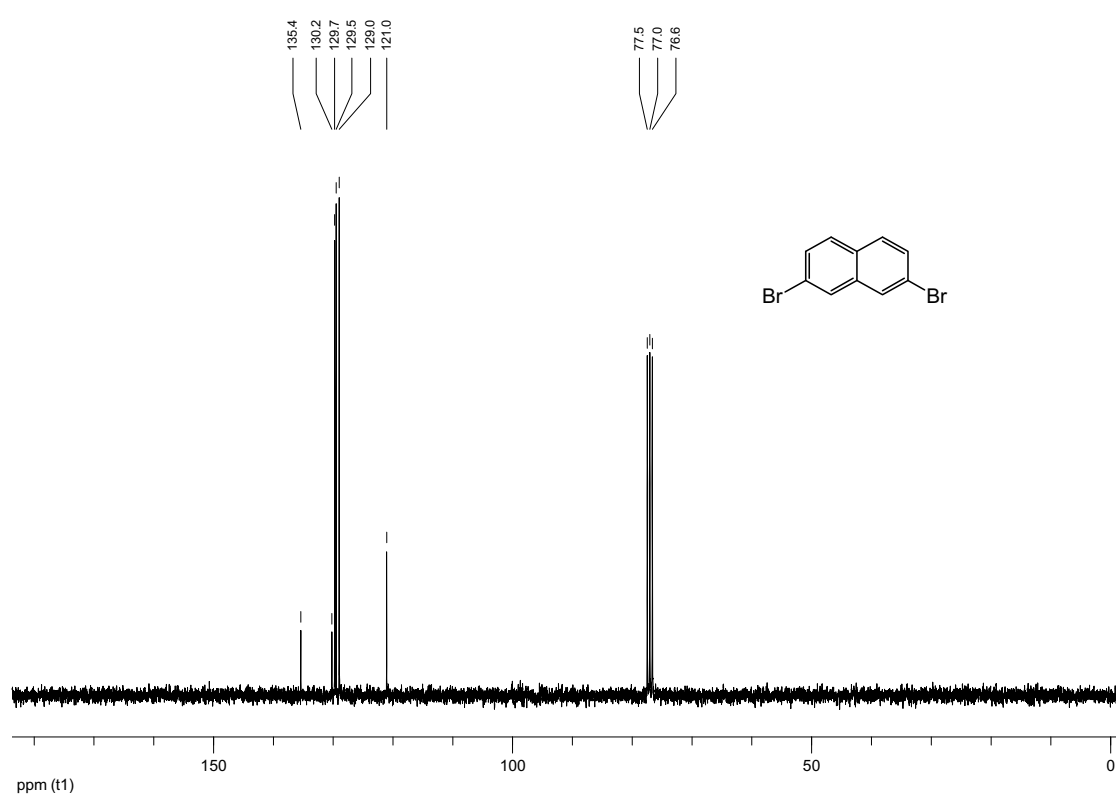
-
- [160] Ward, D. C.; Reich, E. und Stryer, L. (1969): Fluorescence Studies of Nucleotides and Polynucleotides .I. Formycin 2-Aminopurine Riboside 2,6-Diaminopurine Riboside and Their Derivatives, *Journal of Biological Chemistry* (Band 244), Nr. 5, Seite 1228-&
- [161] Guckian, K. M.; Schweitzer, B. A.; Ren, R. X. F.; Sheils, C. J.; Tahmassebi, D. C. und Kool, E. T. (2000): Factors contributing to aromatic stacking in water: Evaluation in the context of DNA, *Journal of the American Chemical Society* (Band 122), Nr. 10, Seite 2213-2222
- [162] Krichel, Carsten (2008): Forschungsbericht, RWTH Aachen
- [163] Bordwell, F. G.; Drucker, G. E. und Fried, H. E. (1981): Acidities of Carbon and Nitrogen Acids - the Aromaticity of the Cyclopentadienyl Anion, *Journal of Organic Chemistry* (Band 46), Nr. 3, Seite 632-635
- [164] Lacey, A. R. und Craven, F. J. (1986): A Preliminary-Study of the Conformation of 1,1'-Binaphthyl in Solution by Raman-Spectroscopy, *Chemical Physics Letters* (Band 126), Nr. 6, Seite 588-592
- [165] Colter, A. K. und Clemens, L. M. (1964): Solvent Effects in Racemization of 1,1]-Binaphthyl . Note on Influence of Internal Pressure on Reaction Rates, *Journal of Physical Chemistry* (Band 68), Nr. 3, Seite 651-654
- [166] Wilson, J. N.; Gao, J. M. und Kool, E. T. (2007): Oligodeoxyfluorosides: strong sequence dependence of fluorescence emission, *Tetrahedron* (Band 63), Nr. 17, Seite 3427-3433
- [167] Köhler, O.; Jarikote, D. V. und Seitz, O. (2005): Forced intercalation probes (FIT probes): Thiazole orange as a fluorescent base in peptide nucleic acids for homogeneous single-nucleotide-polymorphism detection, *Chembiochem* (Band 6), Nr. 1, Seite 69-77
- [168] Jarikote, D. V.; Krebs, N.; Tannert, S.; Röder, B. und Seitz, O. (2007): Exploring base-pair-specific optical properties of the DNA stain thiazole orange, *Chemistry-a European Journal* (Band 13), Nr. 1, Seite 300-310
- [169] Bethge, L.; Jarikote, D. V. und Seitz, O. (2008): New cyanine dyes as base surrogates in PNA: Forced intercalation probes (FIT-probes) for homogeneous SNP detection, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* (Band 16), Nr. 1, Seite 114-125
- [170] Okamoto, A.; Kanatani, K. und Saito, I. (2004): Pyrene-labeled base-discriminating fluorescent DNA probes for homogeneous SNP typing, *Journal of the American Chemical Society* (Band 126), Nr. 15, Seite 4820-4827
- [171] Dohno, C. und Saito, I. (2005): Discrimination of single-nucleotide alterations by G-specific fluorescence quenching, *Chembiochem* (Band 6), Nr. 6, Seite 1075-1081
- [172] Bag, S. S.; Saito, Y.; Hanawa, K.; Kodate, S.; Suzuka, I. und Saito, I. (2006): Intelligent fluorescent nucleoside in sensing cytosine base: Importance of hydrophobic nature of perylene fluorophore, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* (Band 16), Nr. 24, Seite 6338-6341
- [173] Horrocks, D. L. und Wirth, H. O. (1968): Scintillation Measurements at Very High Solute Concentrations Self Quenching-Structure Correlations, *Molecular Crystals* (Band 4), Nr. 1-4, Seite 375-&
- [174] Cakmak, O.; Demirtas, I. und Balaydin, H. T. (2002): Selective bromination of 1-bromonaphthalene: efficient synthesis of bromonaphthalene derivatives, *Tetrahedron* (Band 58), Nr. 28, Seite 5603-5609

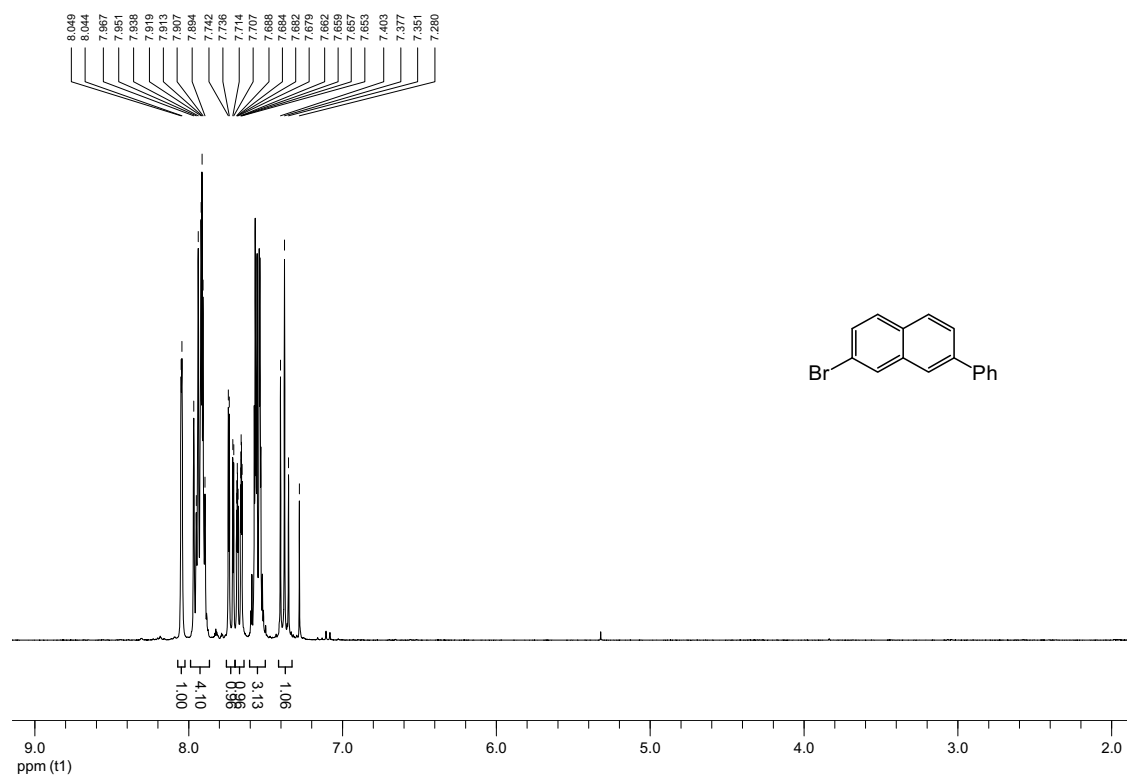
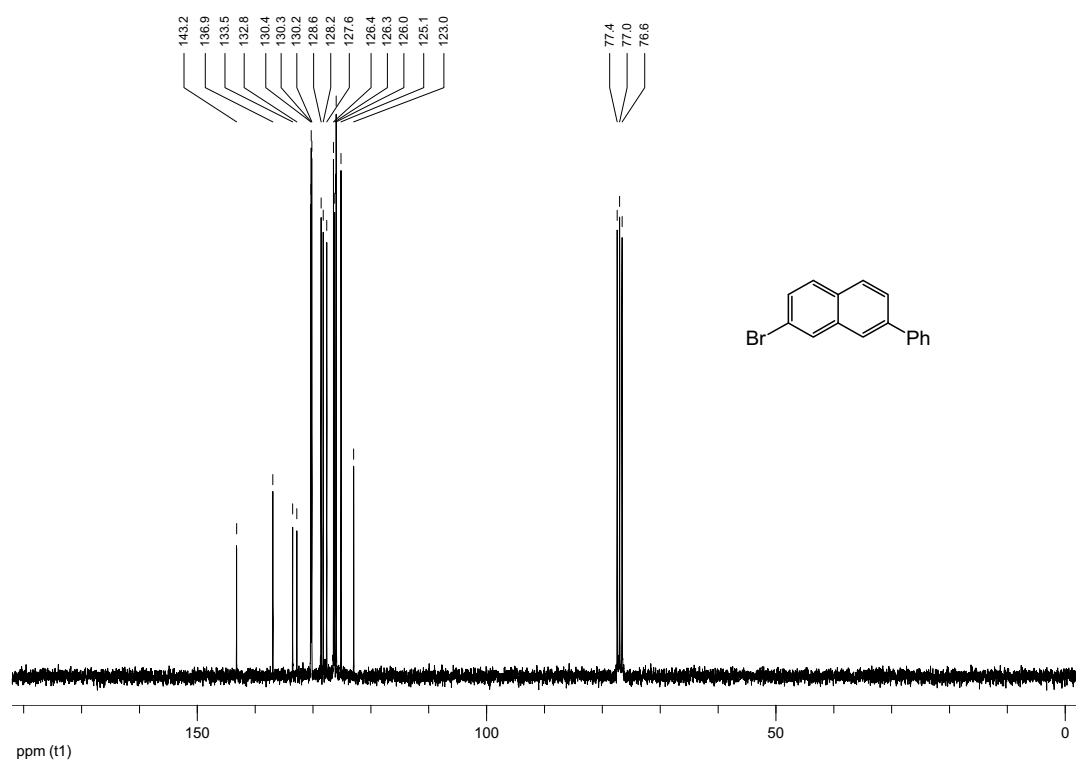
- [175] Liu, R. Y.; Zhang, P. W.; Gan, T. und Cook, J. M. (1997): Regiospecific bromination of 3-methylindoles with NBS and its application to the concise synthesis of optically active unusual tryptophans present in marine cyclic peptides, *Journal of Organic Chemistry* (Band 62), Nr. 21, Seite 7447-7456
- [176] Wipf, P. und Jung, J. K. (2000): Formal total synthesis of (+)-diepoxin sigma, *Journal of Organic Chemistry* (Band 65), Nr. 20, Seite 6319-6337
- [177] Witkowski, J. T.; Fuertes, M.; Cook, P. D. und Robins, R. K. (1975): Nucleosides of 1,2,4-Triazole-3-Carboxamide - Synthesis of Certain Pentofuranosyl, Deoxypentofuranosyl and Pentopyranosyl 1,2,4-Triazoles, *Journal of Carbohydrates-Nucleosides-Nucleotides* (Band 2), Nr. 1, Seite 1-36
- [178] Kim, T. W. und Kool, E. T. (2004): A set of nonpolar thymidine nucleoside analogues with gradually increasing size, *Organic Letters* (Band 6), Nr. 22, Seite 3949-3952
- [179] Seite <http://eu.idtdna.com/analyzer/applications/oligoanalyzer/default.aspx>
- [180] Bourdat, A. G.; Gasparutto, D. und Cadet, J. (1999): Synthesis and enzymatic processing of oligodeoxynucleotides containing tandem base damage, *Nucleic Acids Research* (Band 27), Nr. 4, Seite 1015-1024
- [181] Gillet, L. C. J.; Alzeer, J. und Schärer, O. D. (2005): Site-specific incorporation of N-(deoxyguanosin-8-yl)-2-acetylaminofluorene (dG-AAF) into oligonucleotides using modified 'ultra-mild' DNA synthesis, *Nucleic Acids Research* (Band 33), Nr. 6, Seite 1961-1969

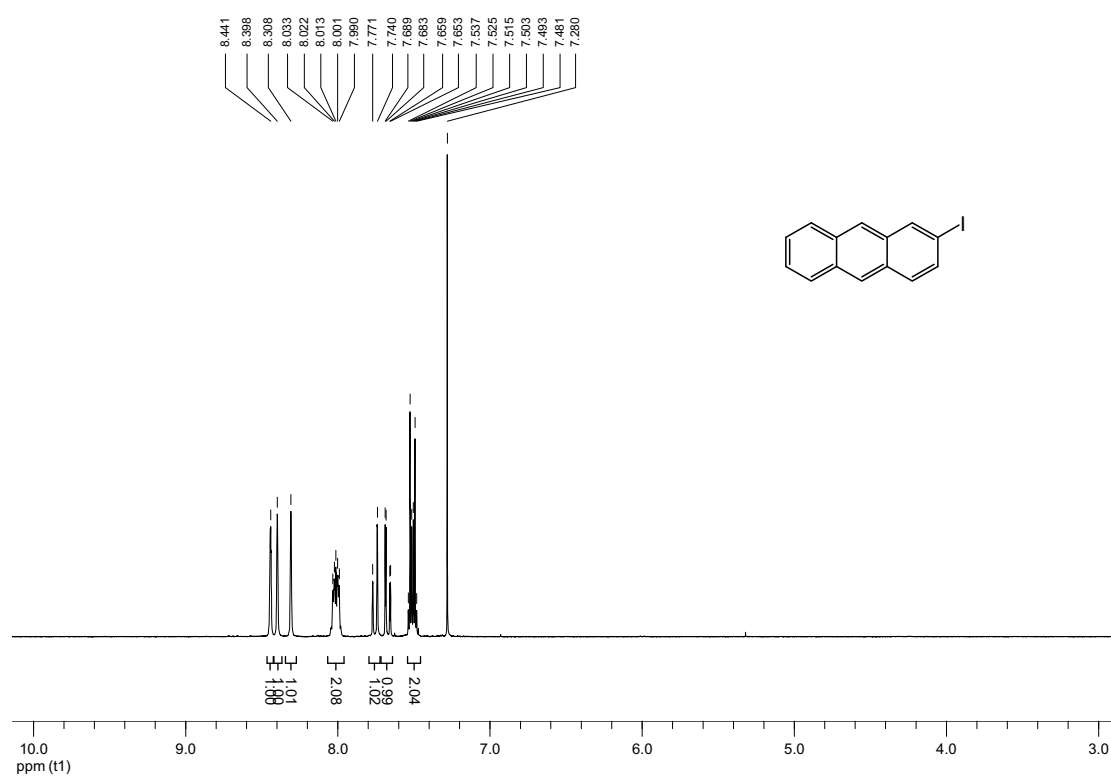
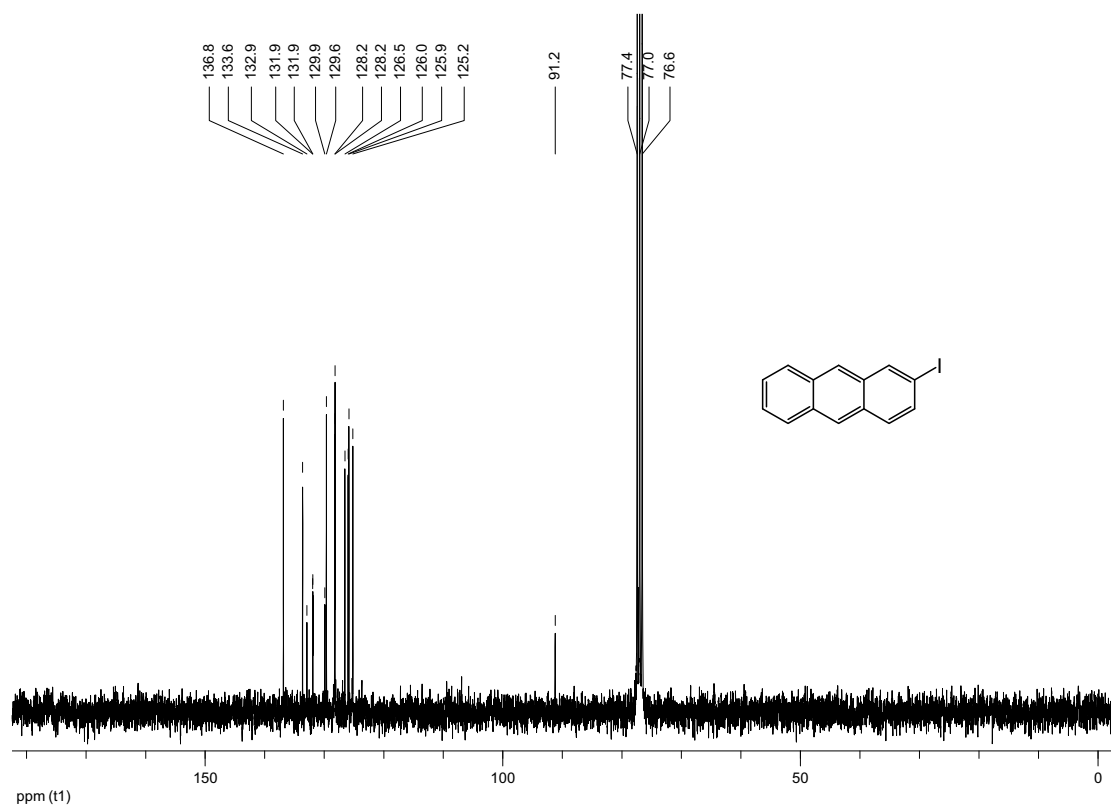
8 Anhang

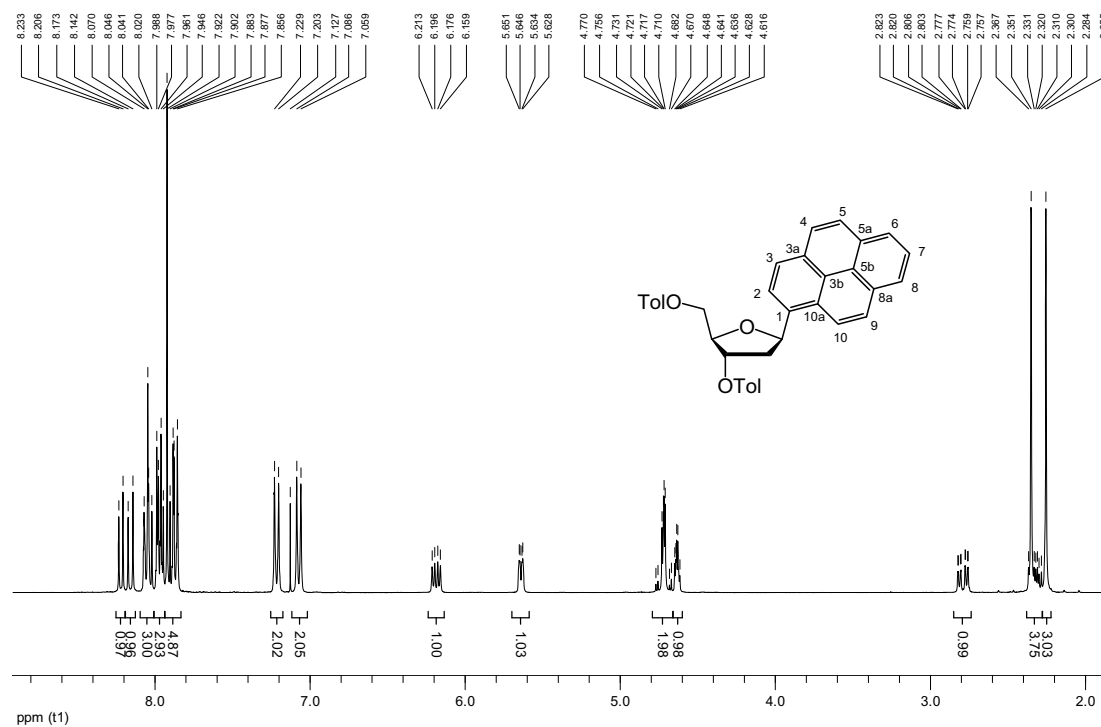
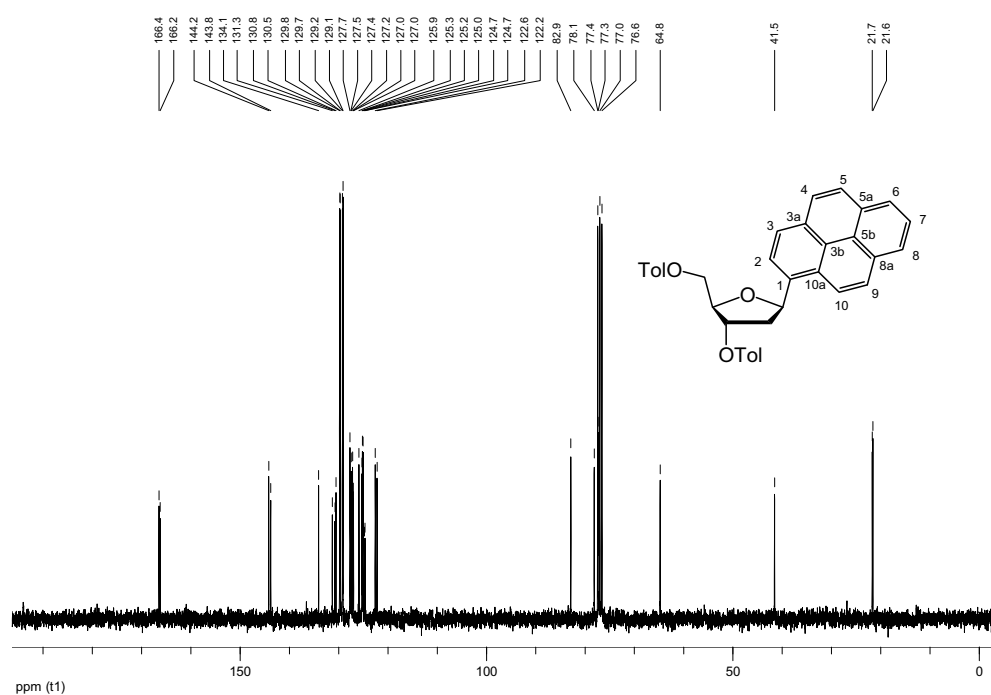
8.1 NMR-Spektren

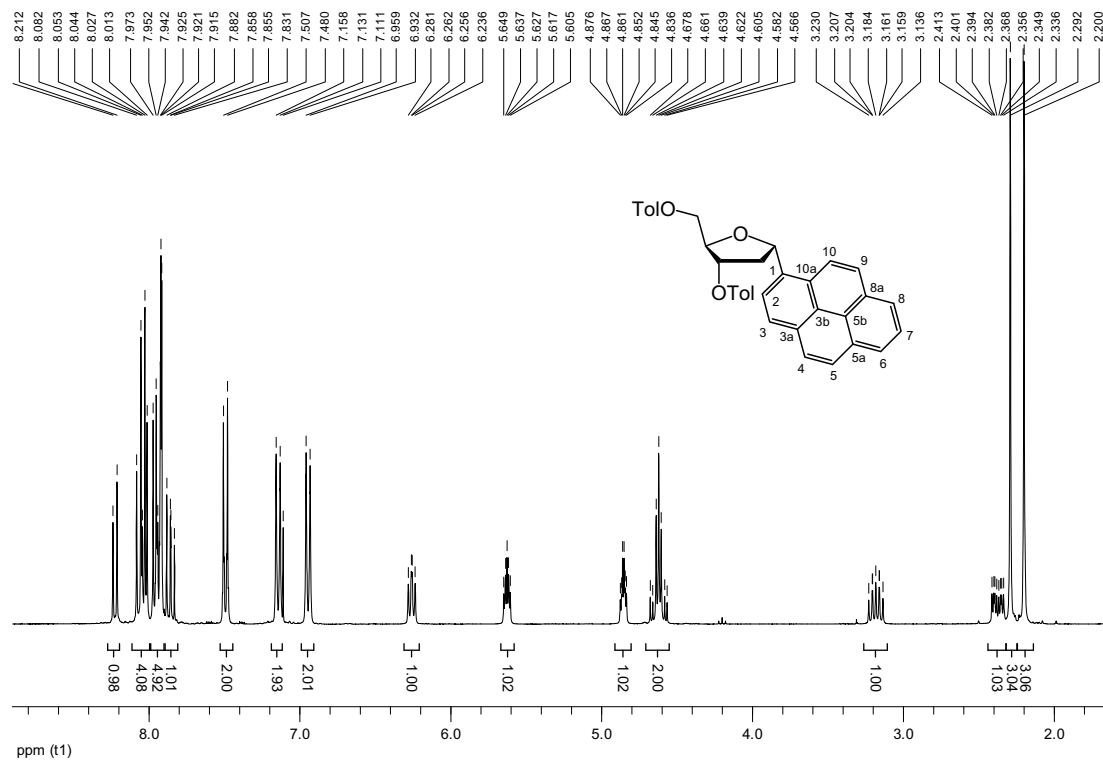
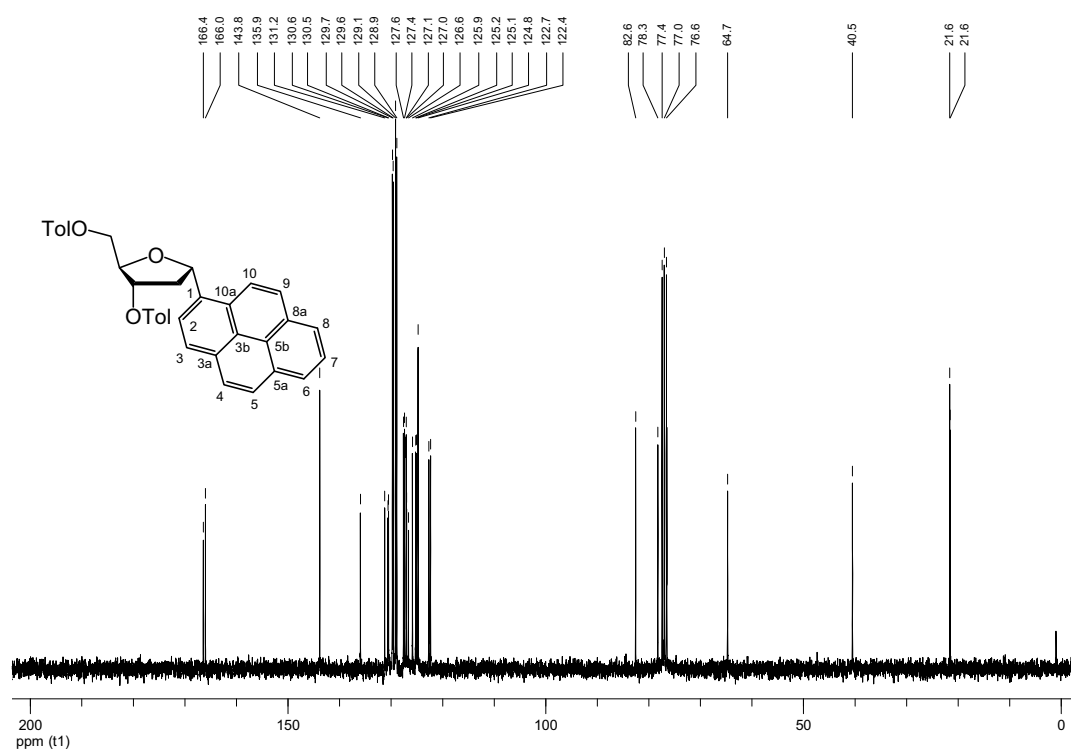
4-Bromo-[1,1']binaphthyl (114)¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)¹³C-NMR (75.5 MHz; CDCl₃)

2,7-Dibromnaphthalin (116) ^1H -NMR (300 MHz; CDCl_3) ^{13}C -NMR (75.5 MHz; CDCl_3)

2-Brom(7-phenyl)naphthalin (117) $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; CDCl_3) $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz; CDCl_3)

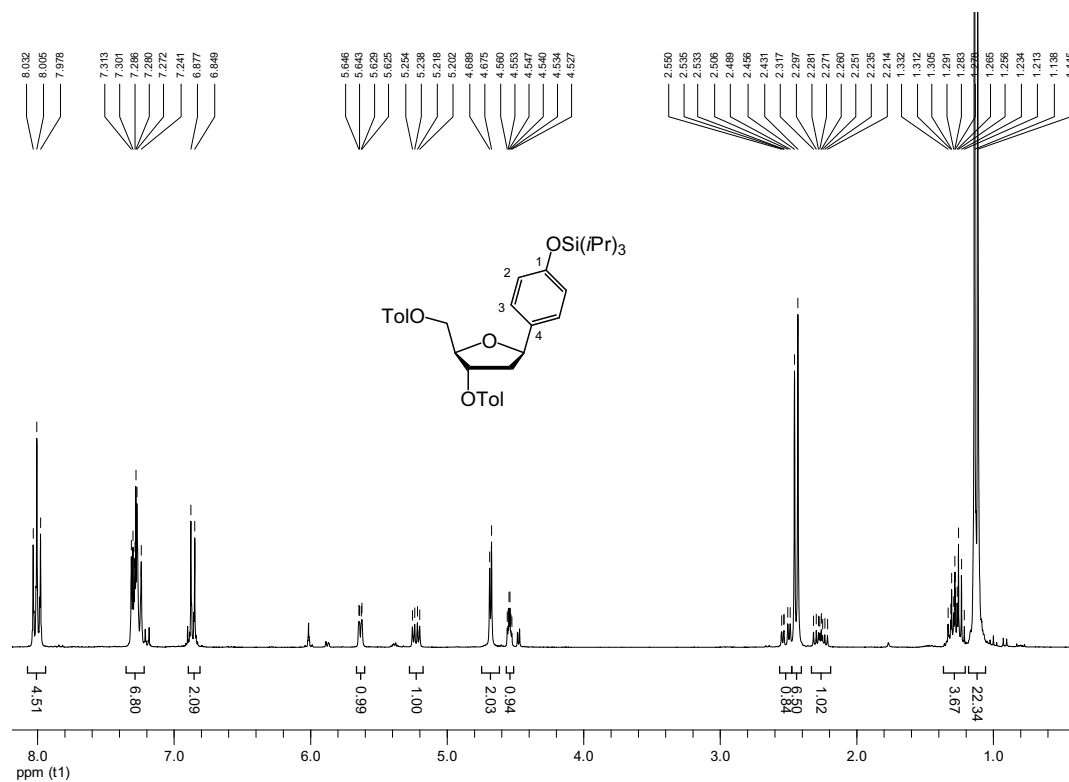
2-Iodanthracen (124) ^1H -NMR (300 MHz; CDCl_3) ^{13}C -NMR (75 MHz; CDCl_3)

Friedel-Crafts-Alkylierung **β -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(1-pyrenyl)ribofuranose (134a β)**¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)¹³C-NMR (75.5 MHz; CDCl₃)

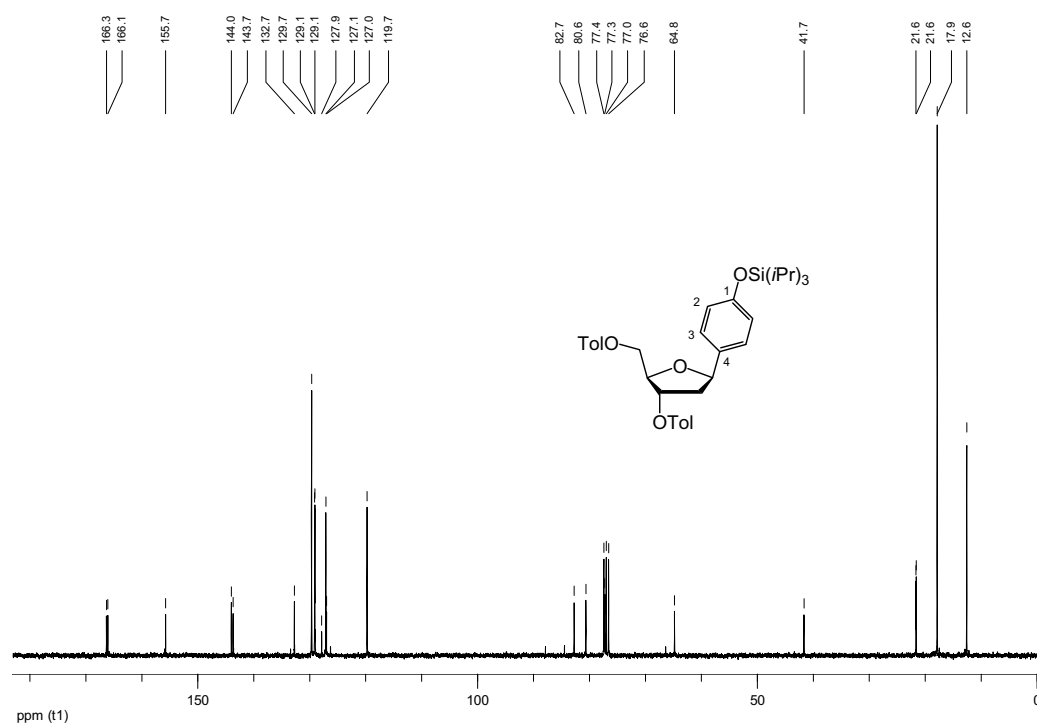
α -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(1-pyrenyl)ribofuranose (134a α)¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)¹³C-NMR (75.5 MHz; CDCl₃)

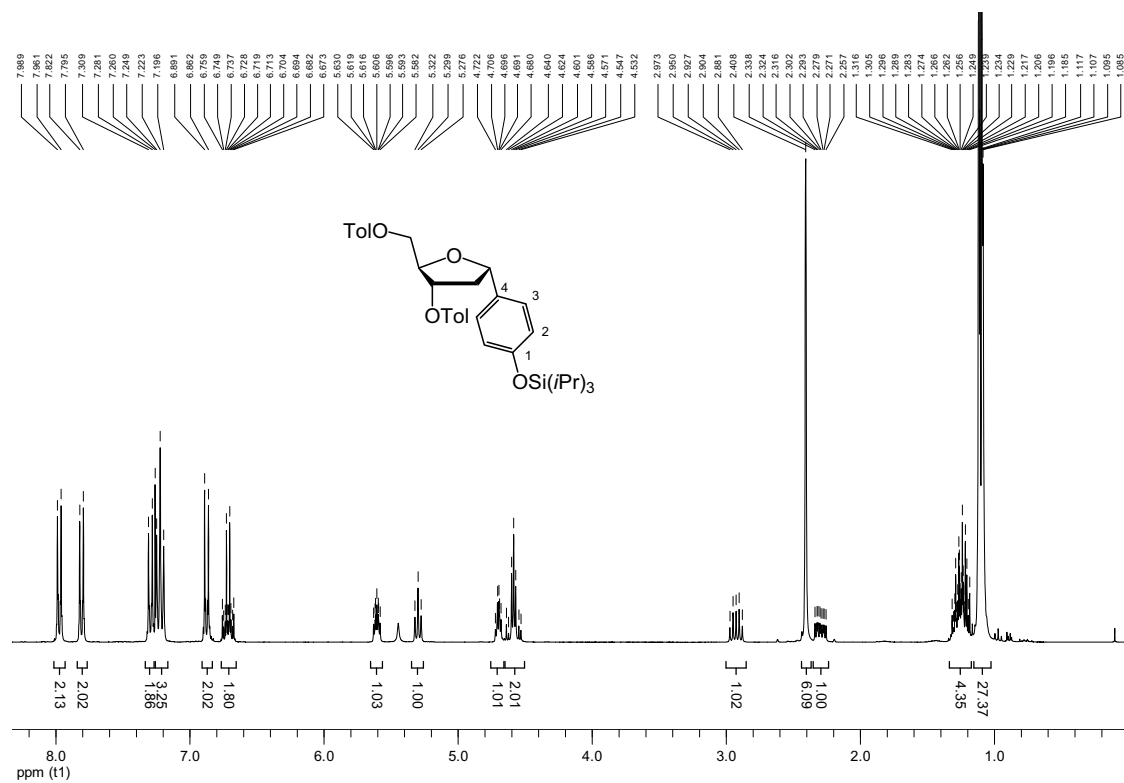
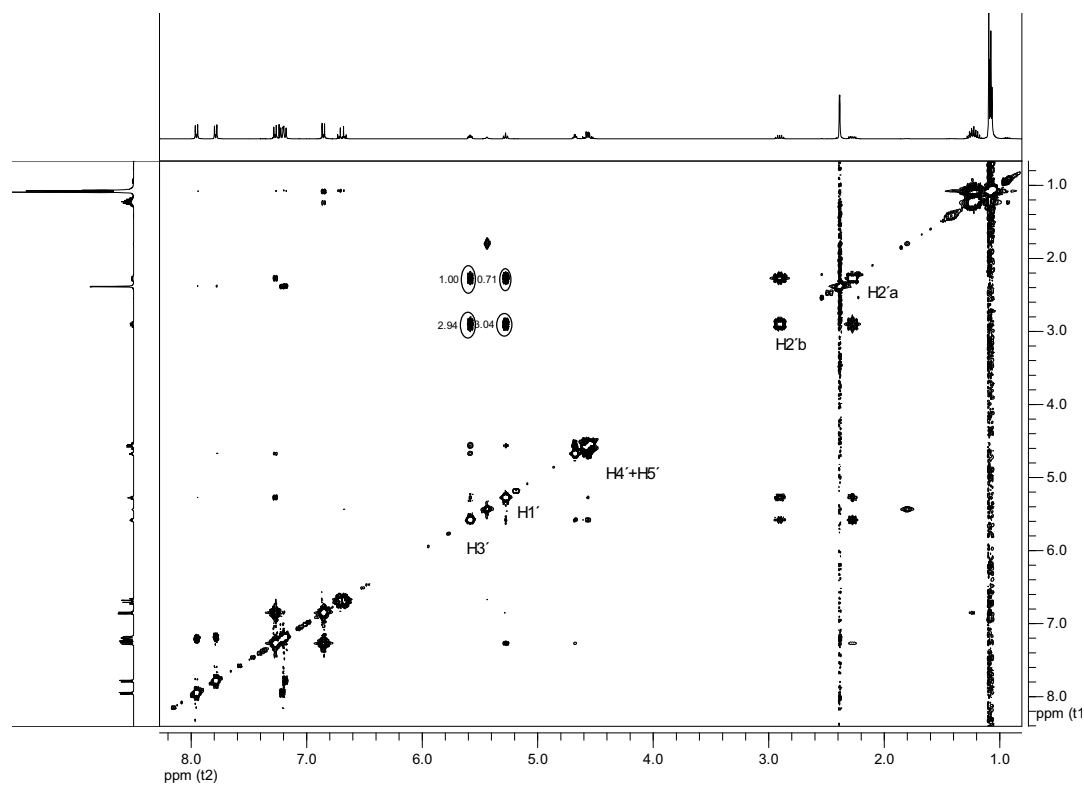
β -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(4-triisopropylsilyloxyphenyl)ribofuranose (134b β)

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; CDCl_3)

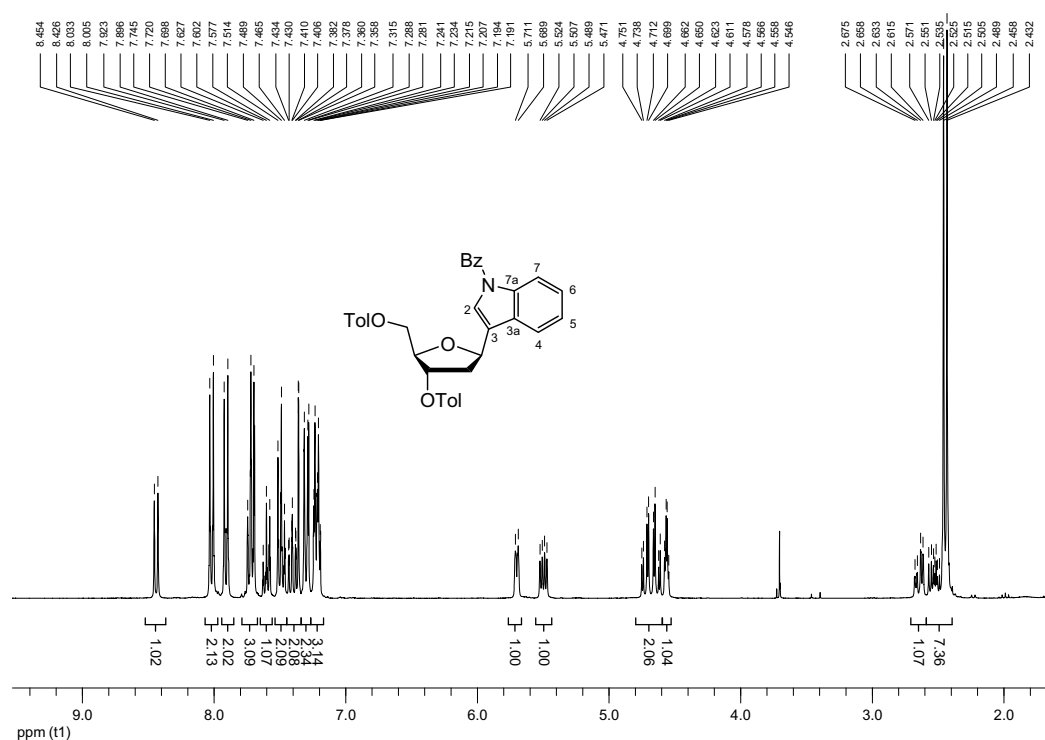


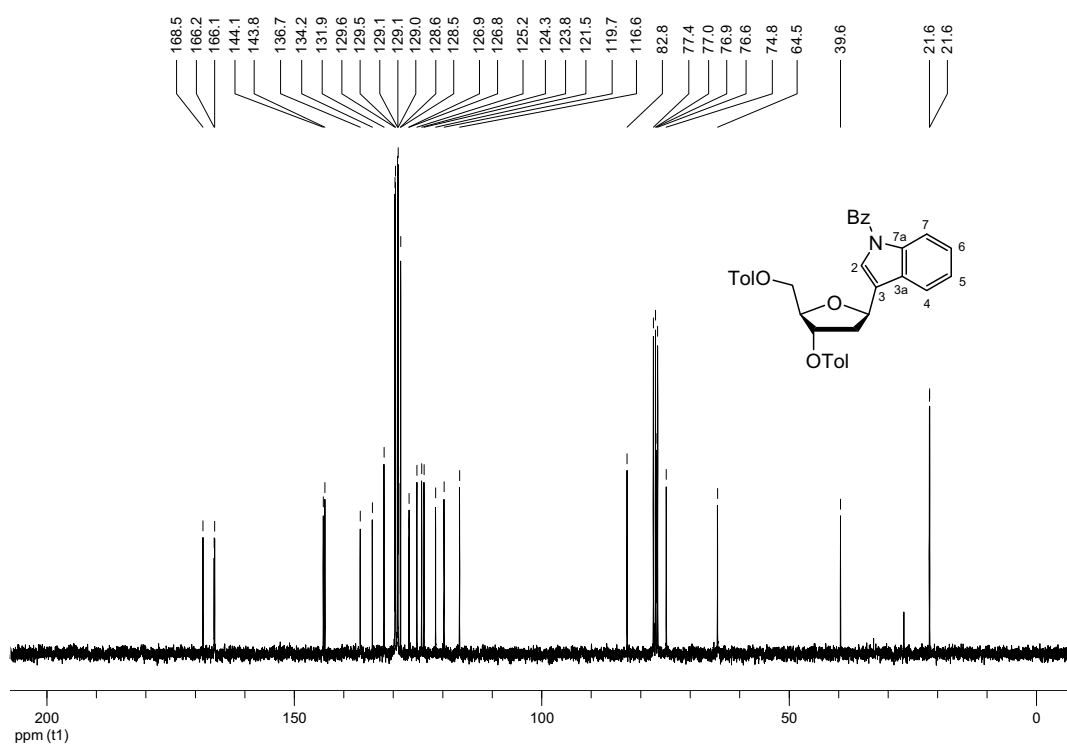
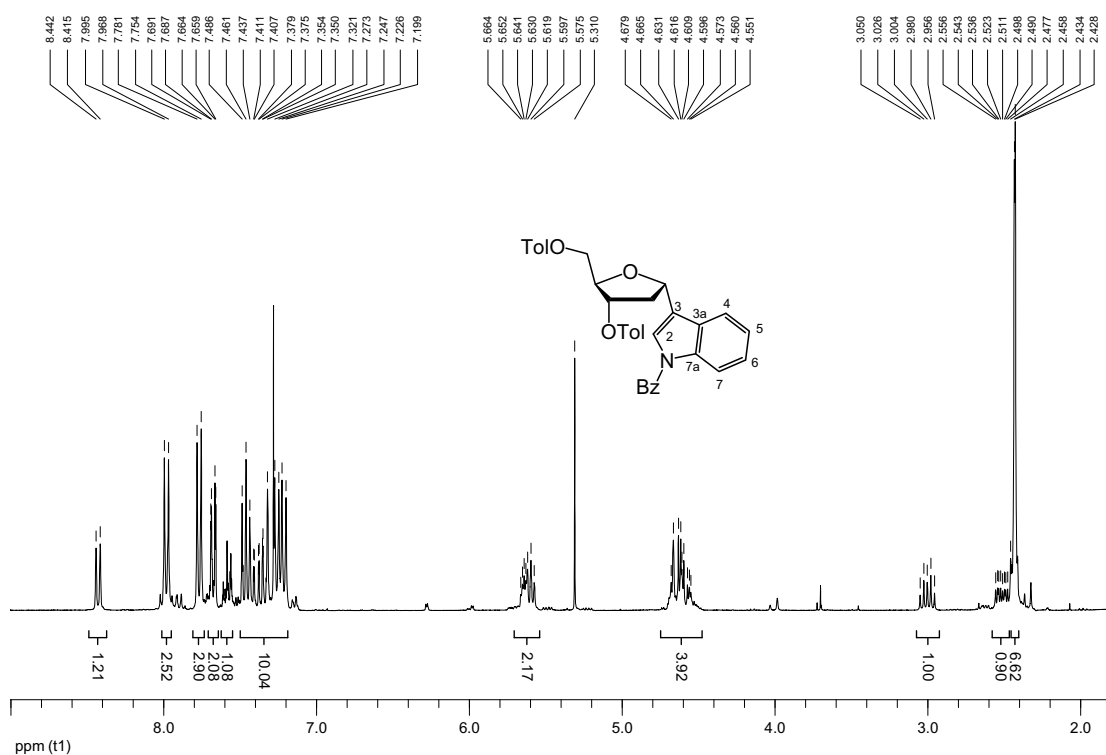
$^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz; CDCl_3)

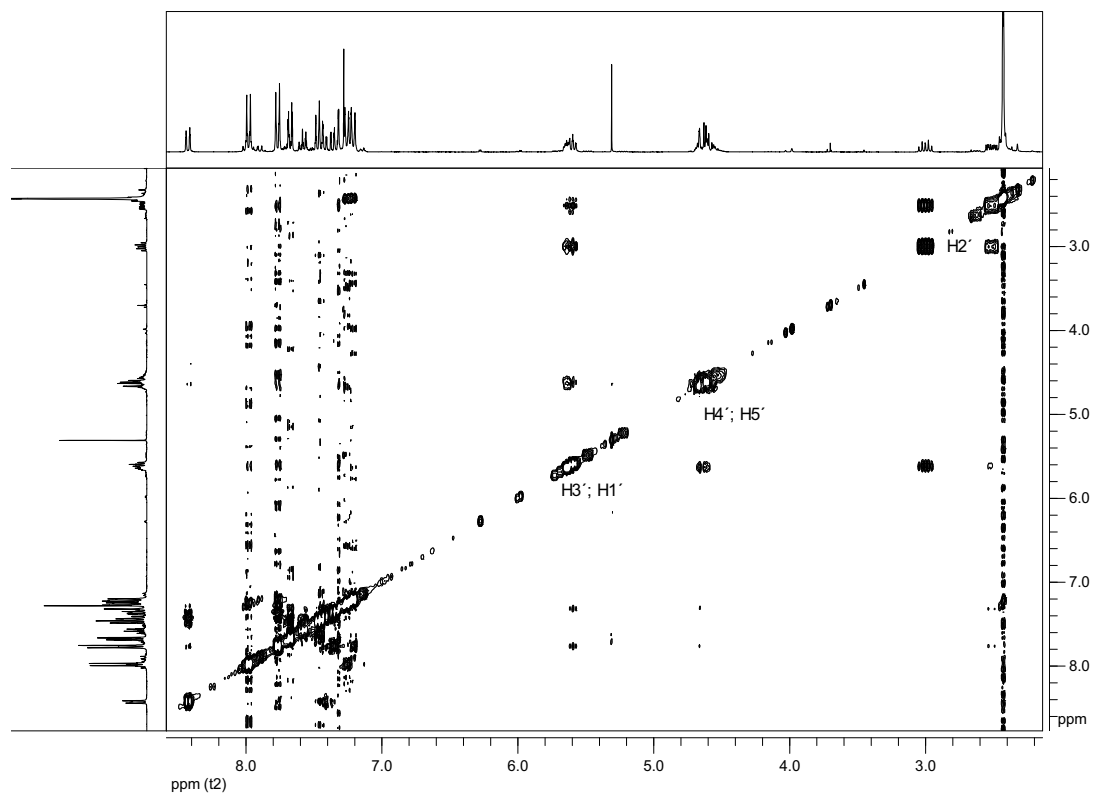
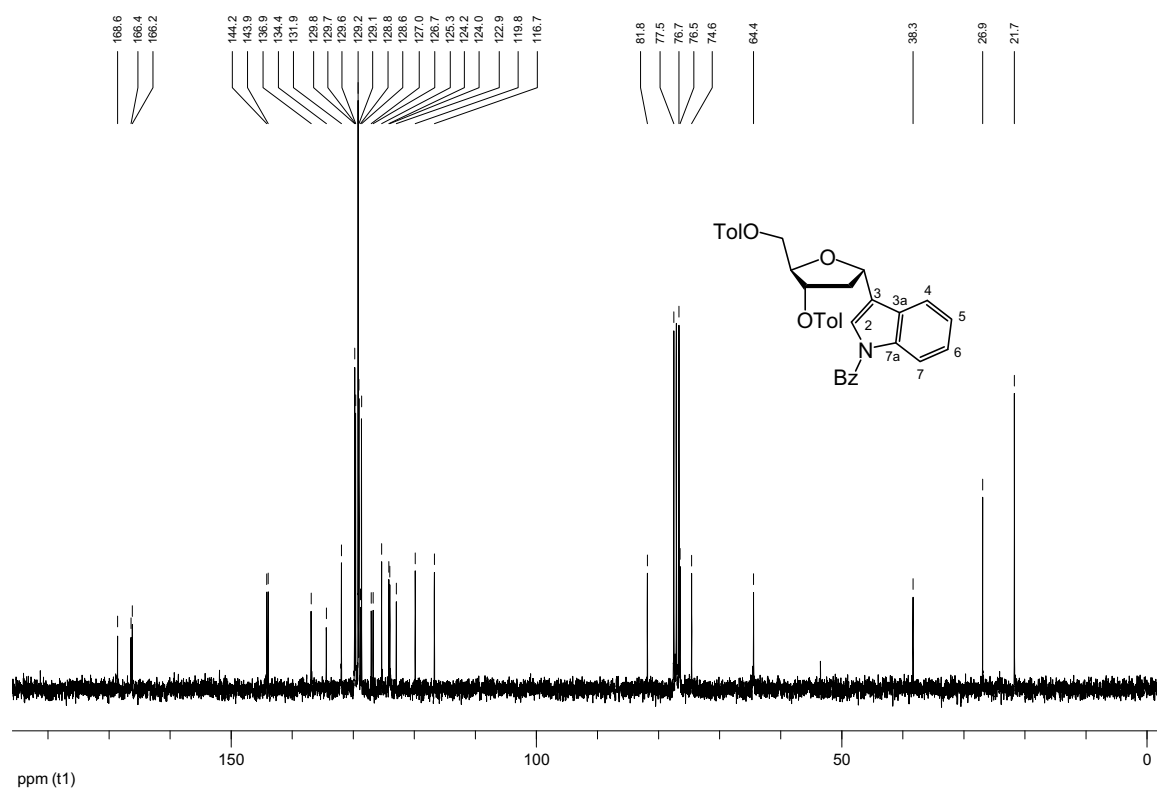


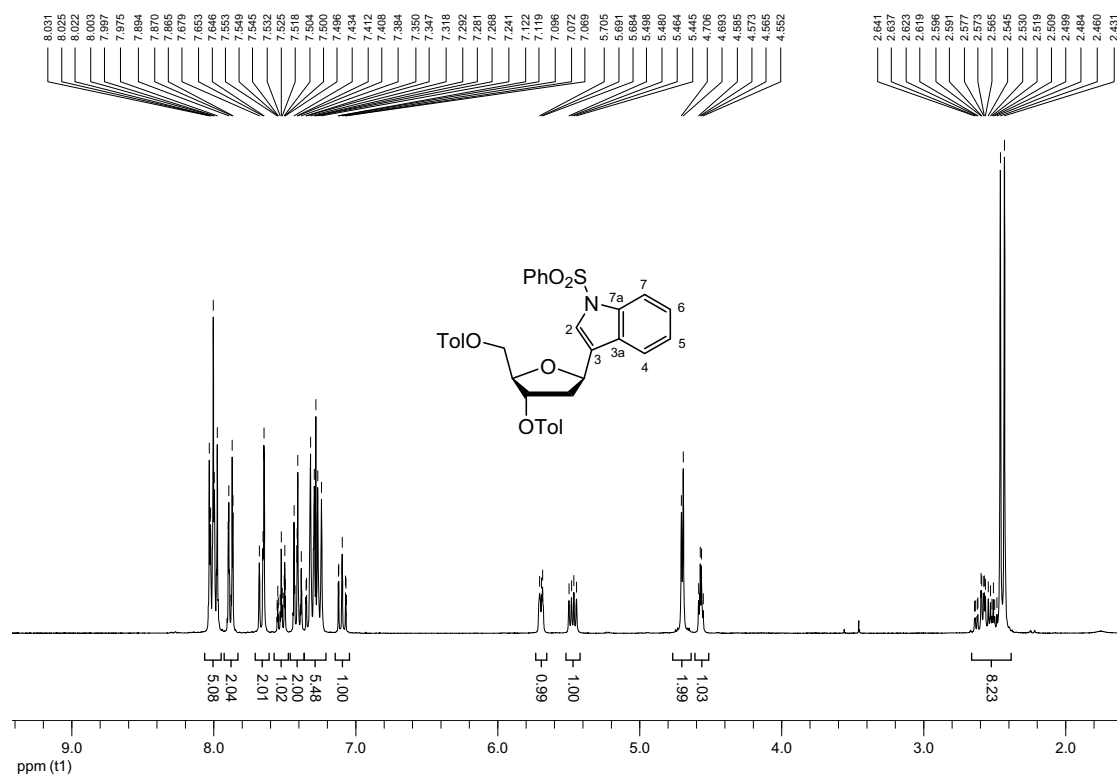
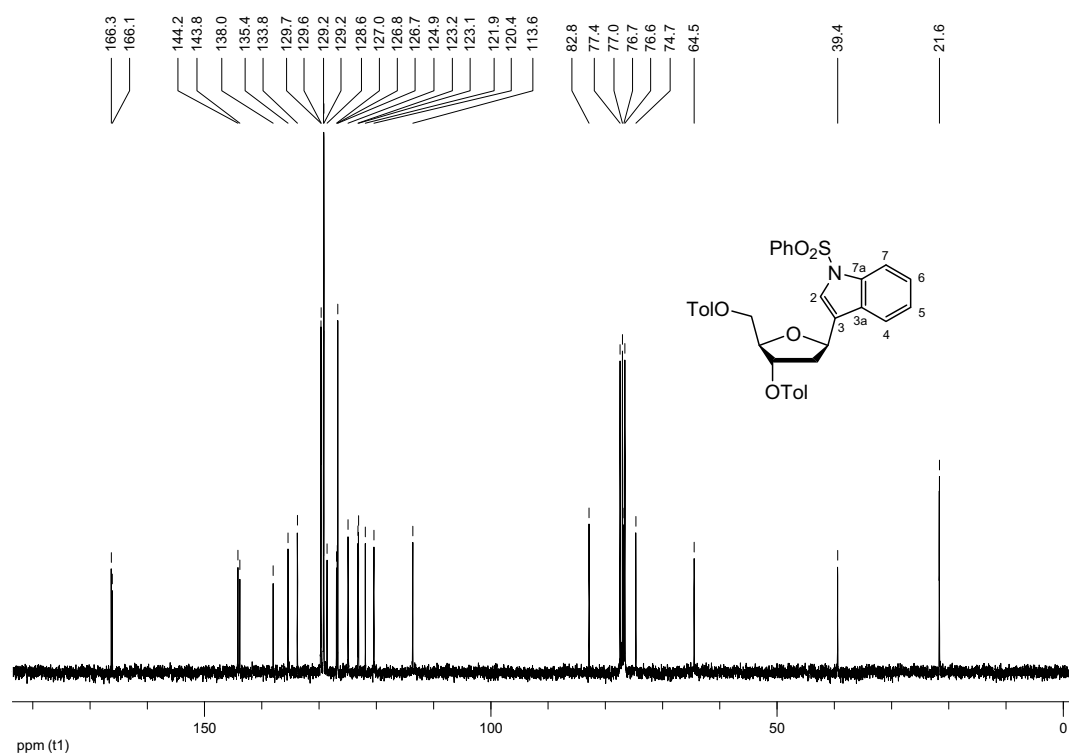
α -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(4-triisopropylsilyloxyphenyl)ribofuranose (134b α)¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)NOESY (300 MHz; CDCl₃)

Chemical structure of compound 10 is shown above the spectrum. The structure is a 1,2:3,4-bis-O-tolylidene-β-D-xylarotriose derivative. The peaks are labeled with their chemical shifts: 166.4, 166.2, 155.5, 149.9, 149.5, 143.9, 143.8, 134.2, 128.7, 129.6, 129.1, 129.0, 127.0, 127.0, 126.8, 120.4, 119.7, 115.8, 81.8, 80.1, 77.4, 77.0, 76.6, 76.5, 64.6, 40.4, 21.6, 17.9, 12.6, 12.5.

¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)

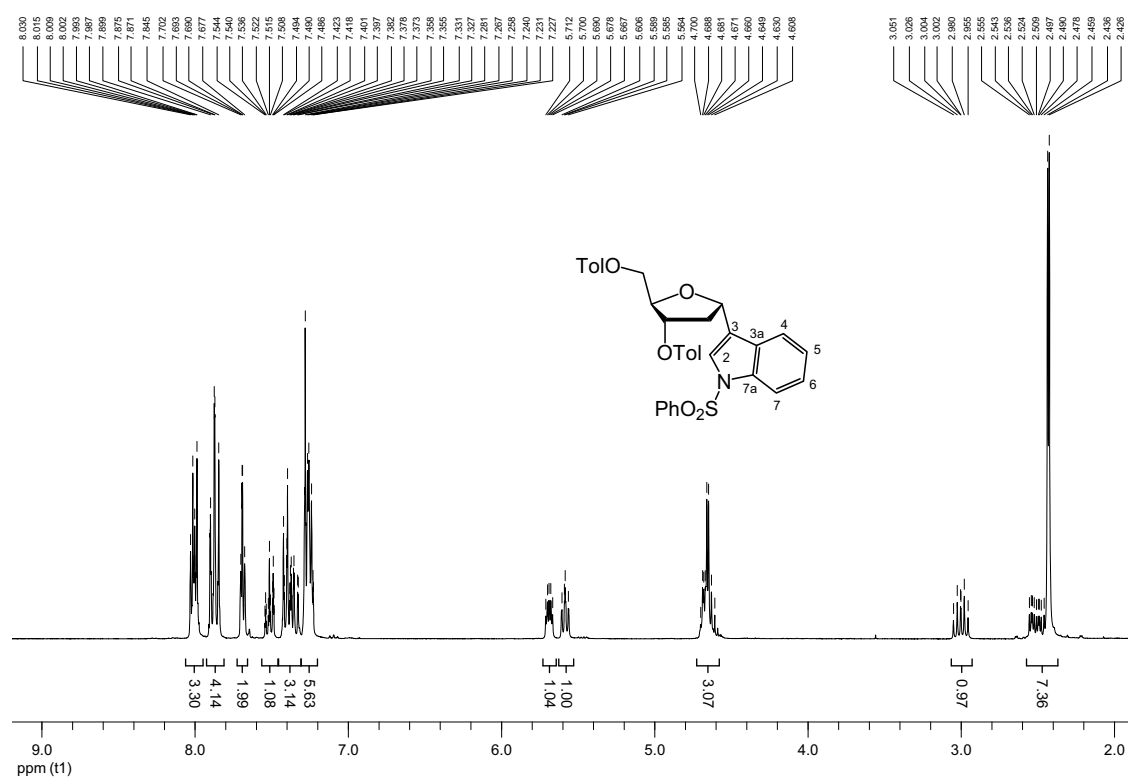
^{13}C -NMR (75.5 MHz; CDCl_3) α -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-(*N*-benzoyl)indolyl)ribofuranose (134α) ^1H -NMR (300 MHz; CDCl_3)

NOESY (300 MHz; CDCl_3) ^{13}C -NMR (75.5 MHz; CDCl_3)

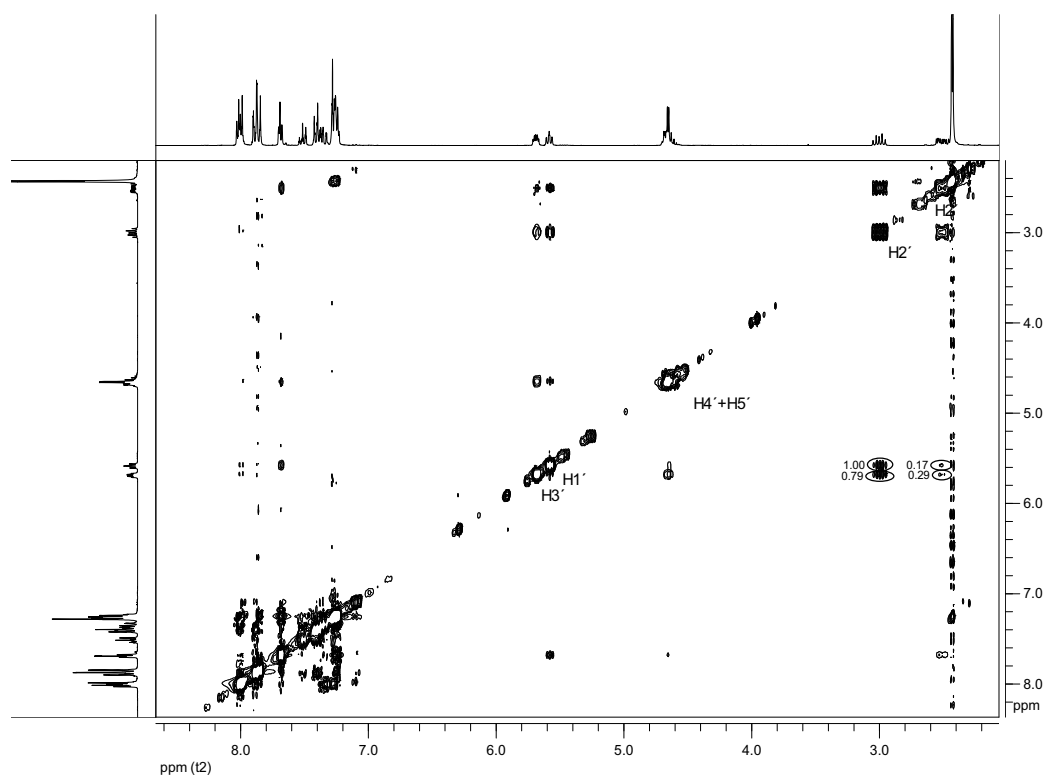
β -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-(*N*-phenylsulfonyl)indolyl)ribofuranose (134d β)¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)¹³C-NMR (75.5 MHz; CDCl₃)

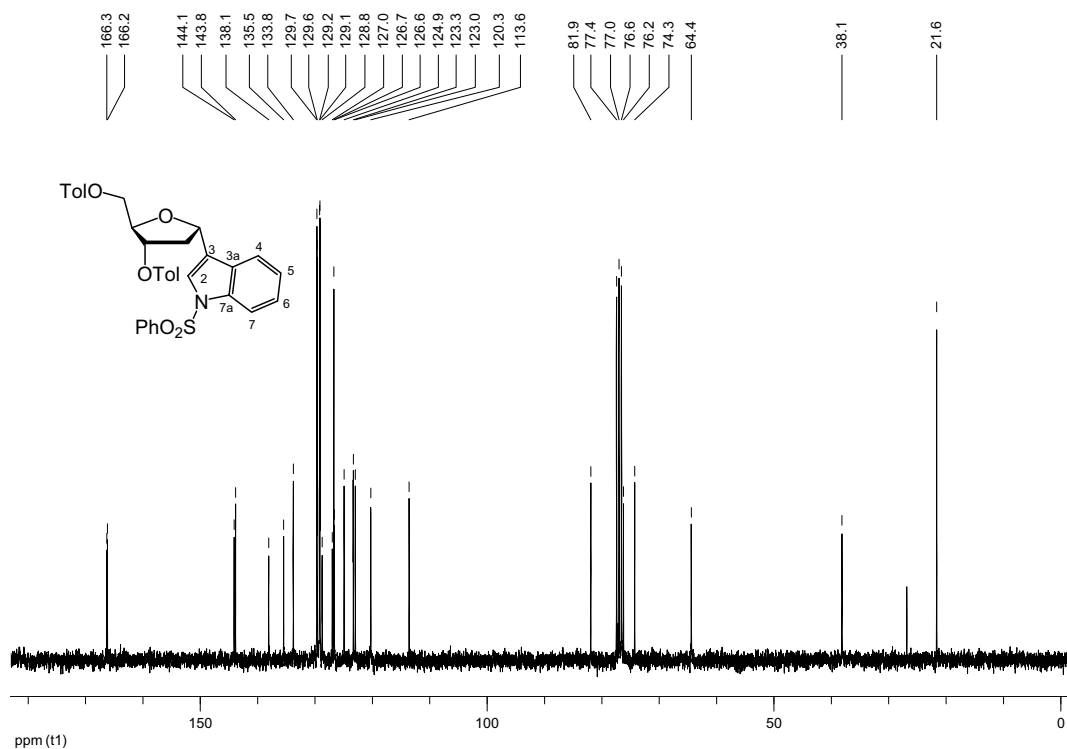
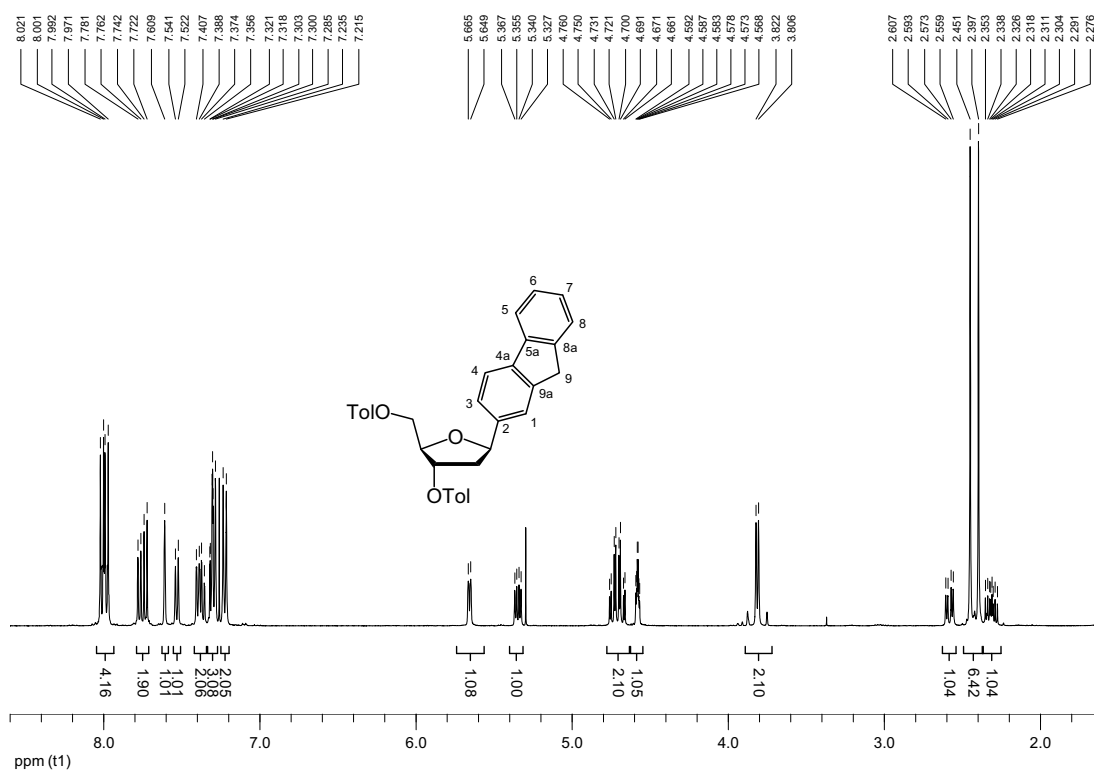
α -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-(*N*-phenylsulfonyl)indolyl)ribofuranose (134d α)

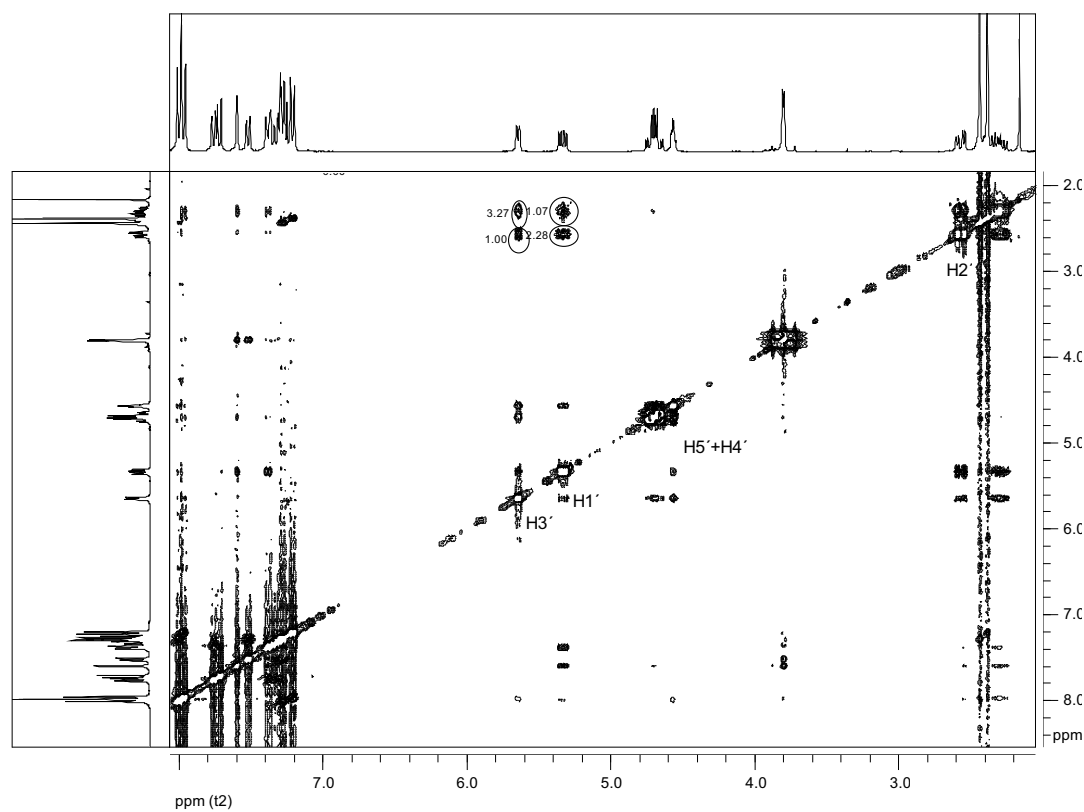
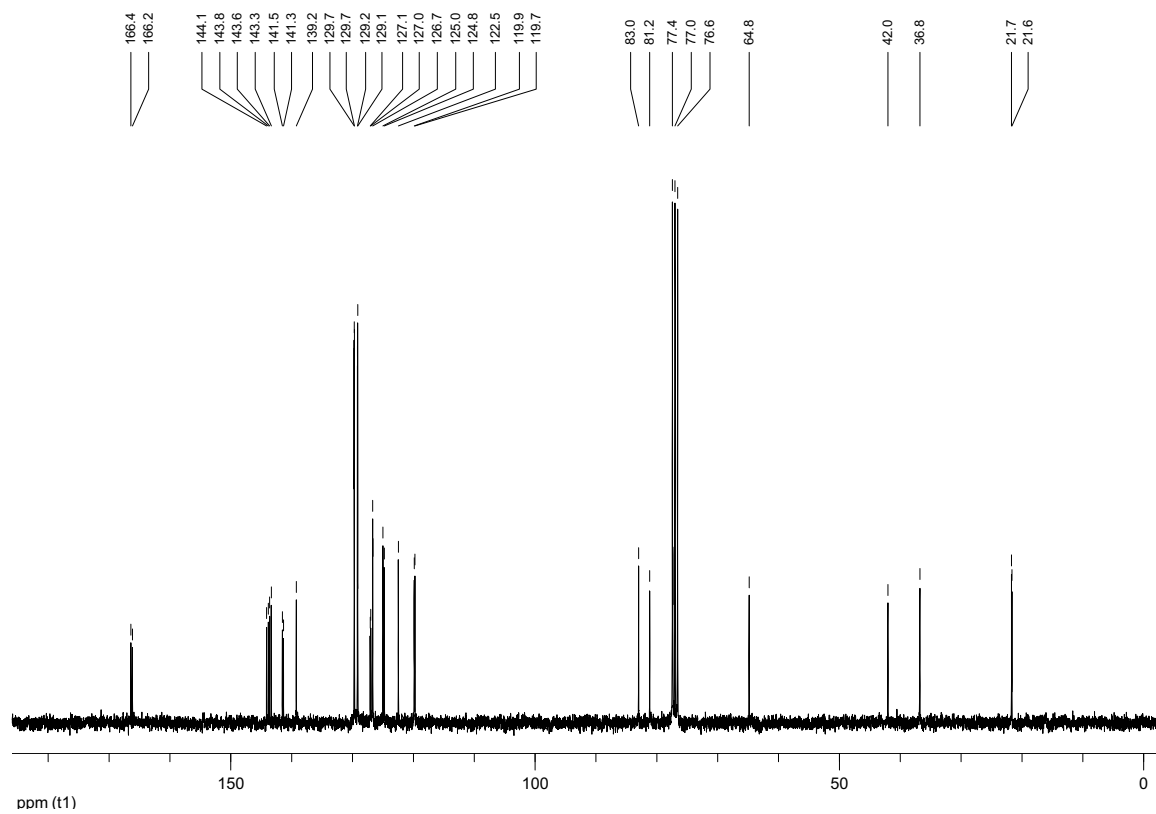
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; CDCl_3)

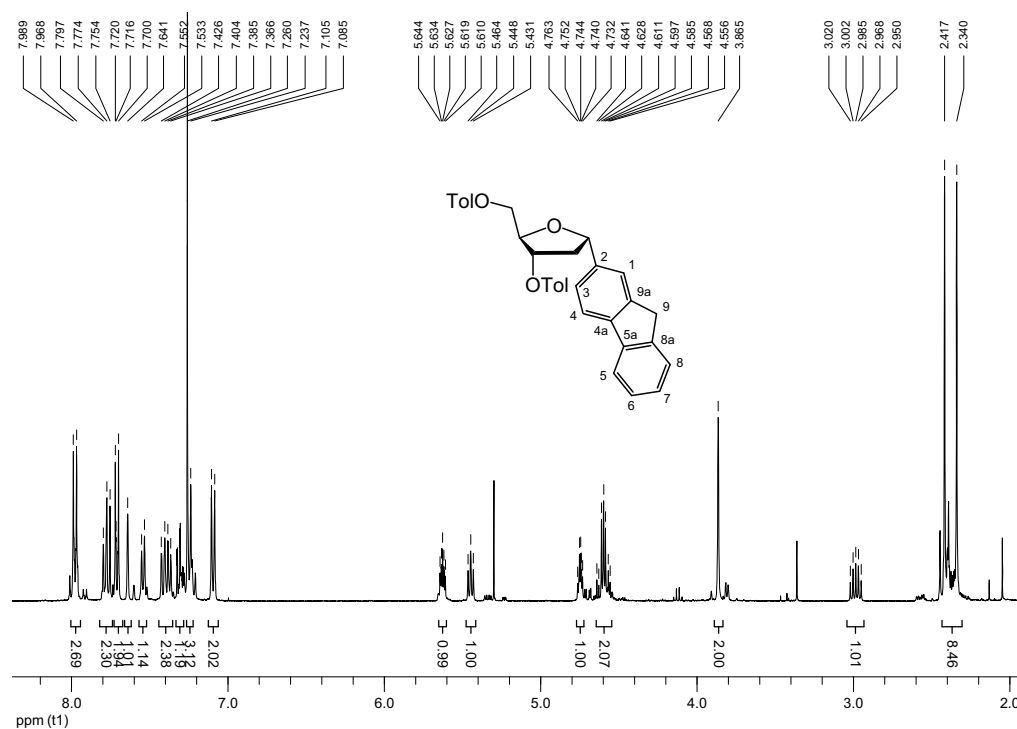
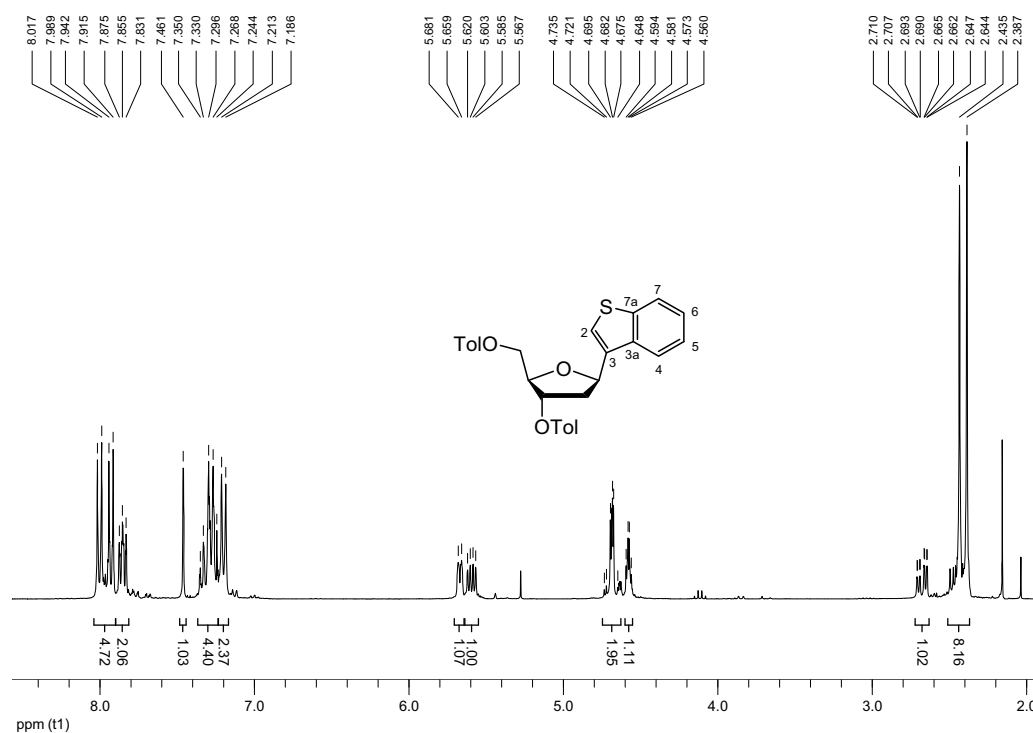


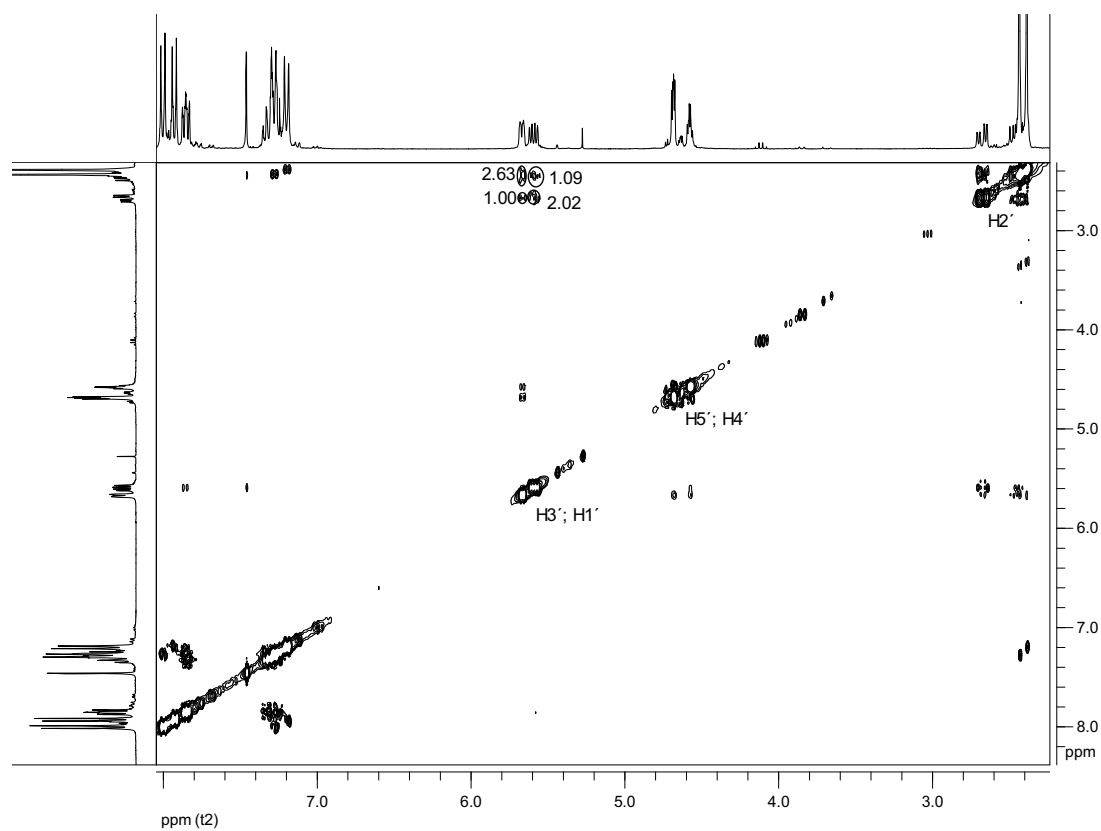
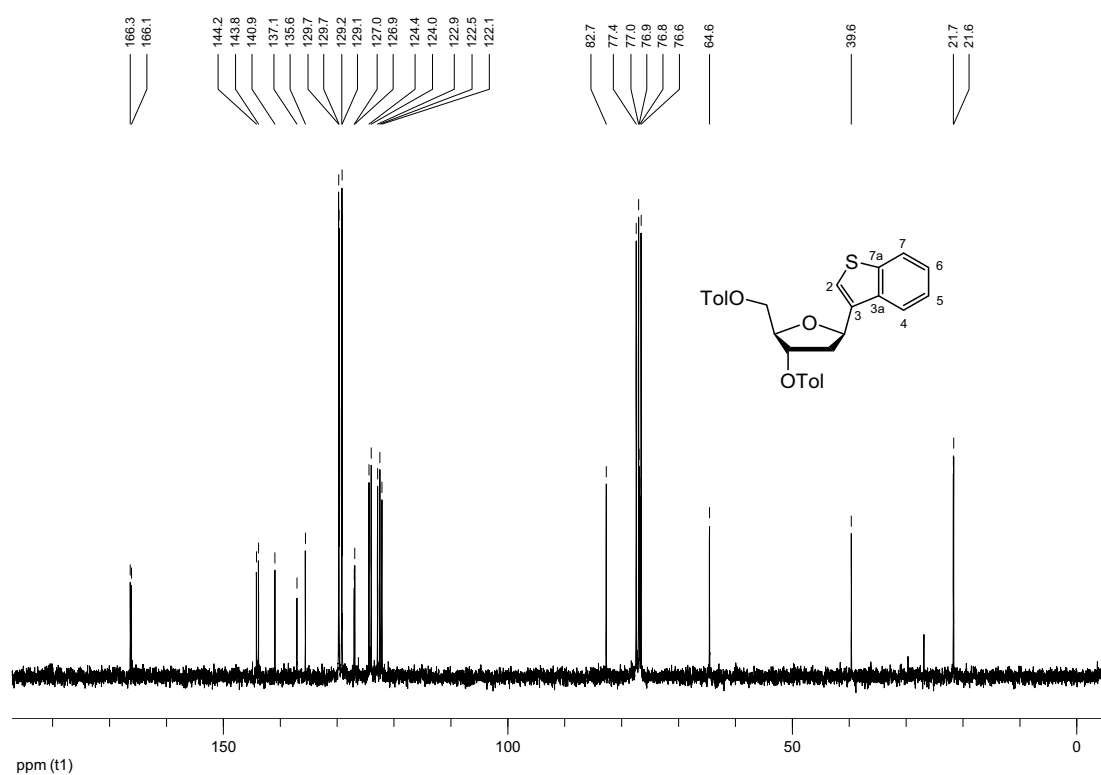
NOESY (300 MHz; CDCl_3)

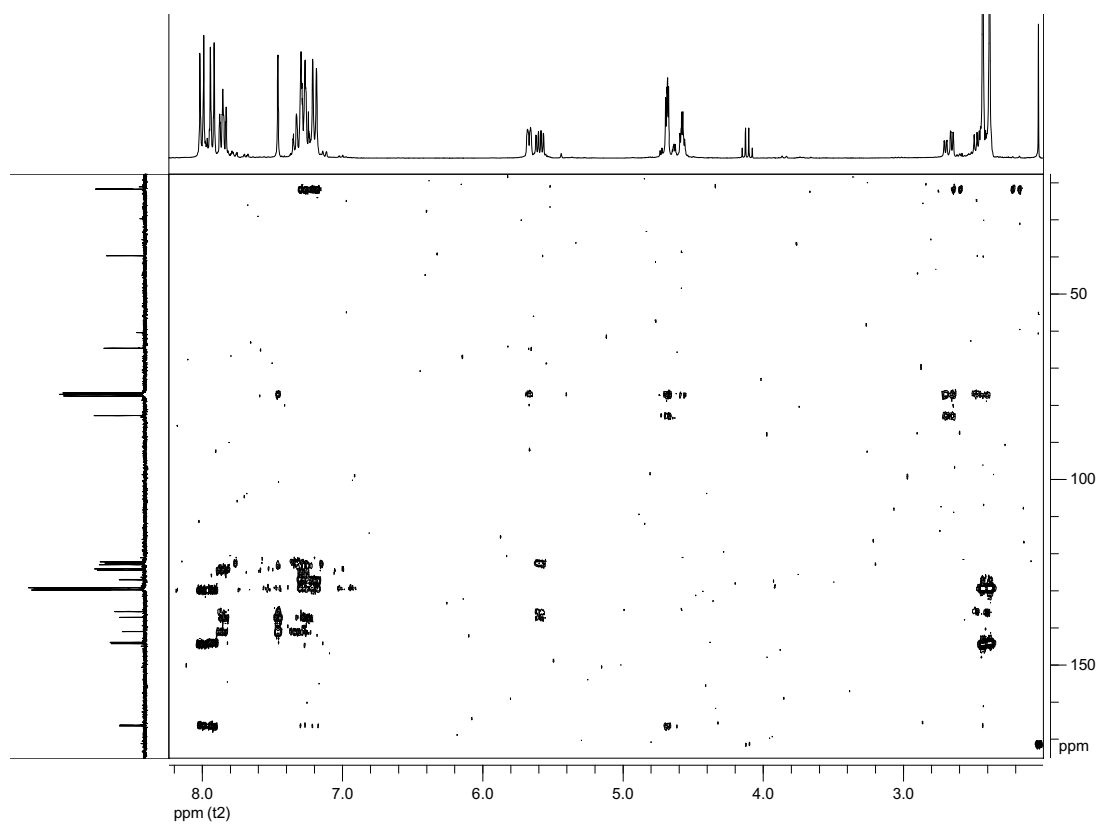
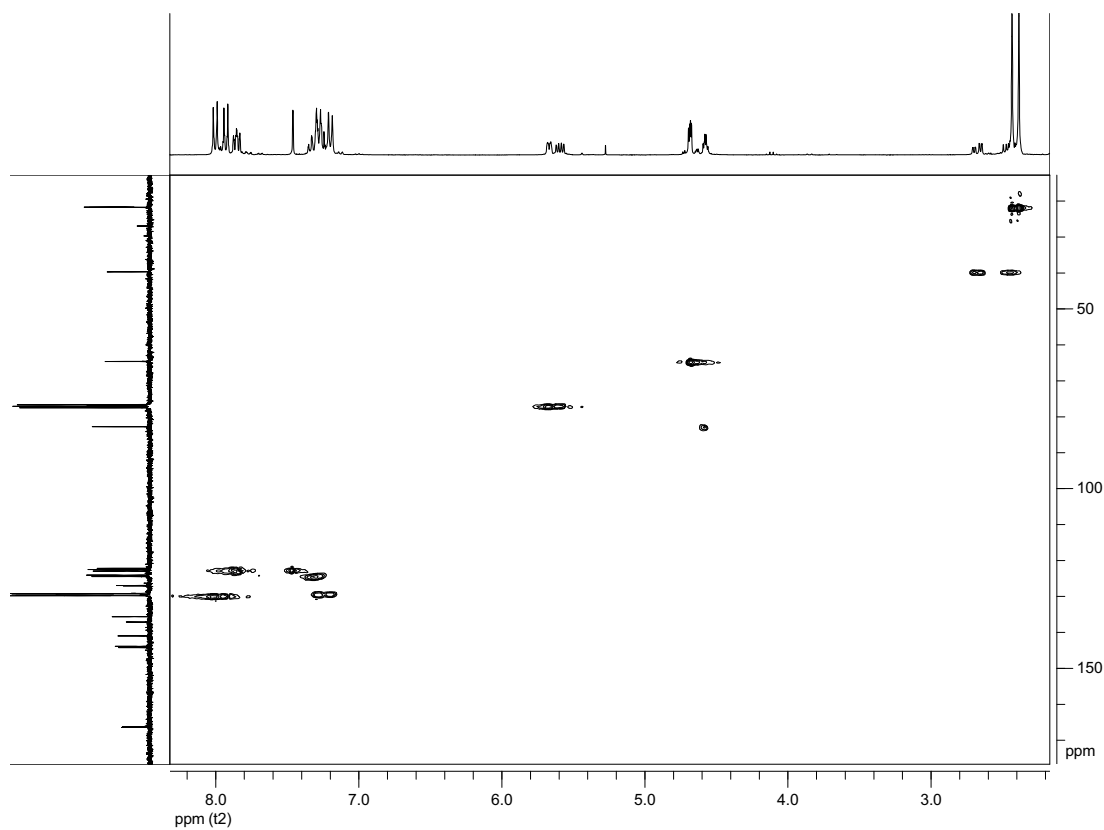


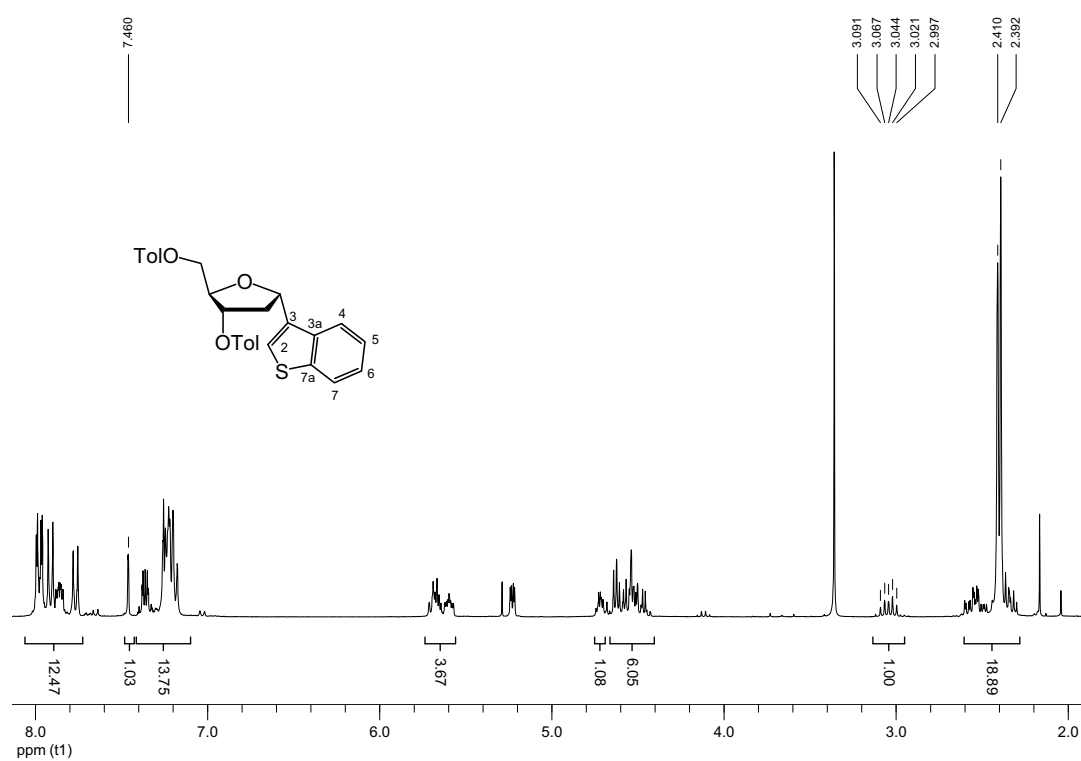
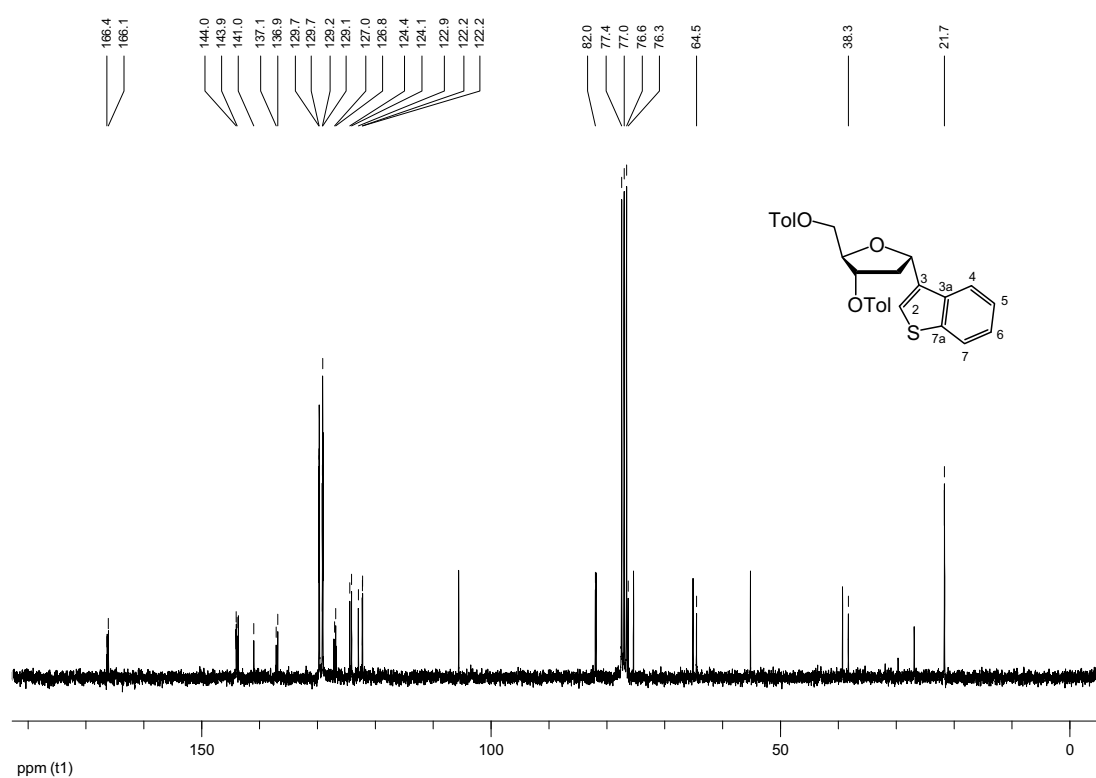
^{13}C -NMR (75.5 MHz; CDCl_3) β -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(2-fluorenyl)ribofuranose (134e β) ^1H -NMR (400 MHz; CDCl_3)

NOESY (300 MHz; CDCl_3) ^{13}C -NMR (75.5 MHz; CDCl_3)

α -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(2-fluorenyl)ribofuranose (134e α)¹H-NMR (400 MHz; CDCl₃) **β -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-benzothiophenyl)ribofuranose (134f β)**¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)

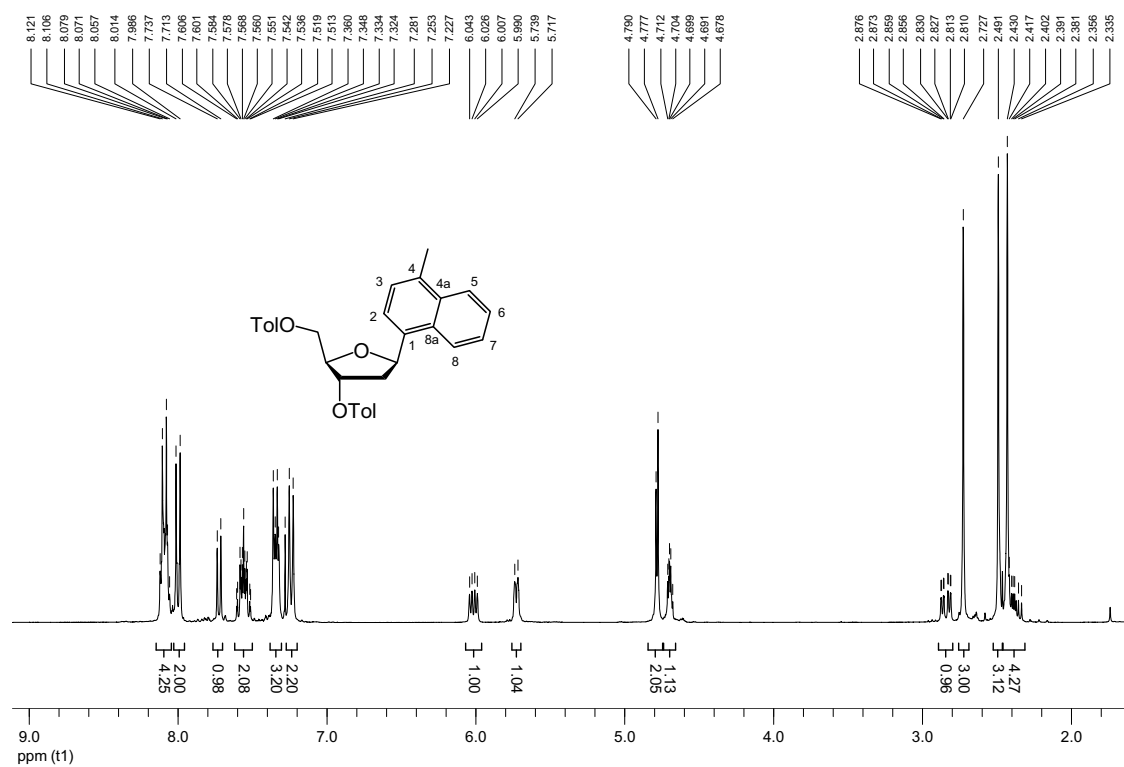
NOESY (300 MHz; CDCl₃)¹³C-NMR (75.5 MHz; CDCl₃)

HMBC (300 MHz; CDCl₃)HMQC (300 MHz; CDCl₃)

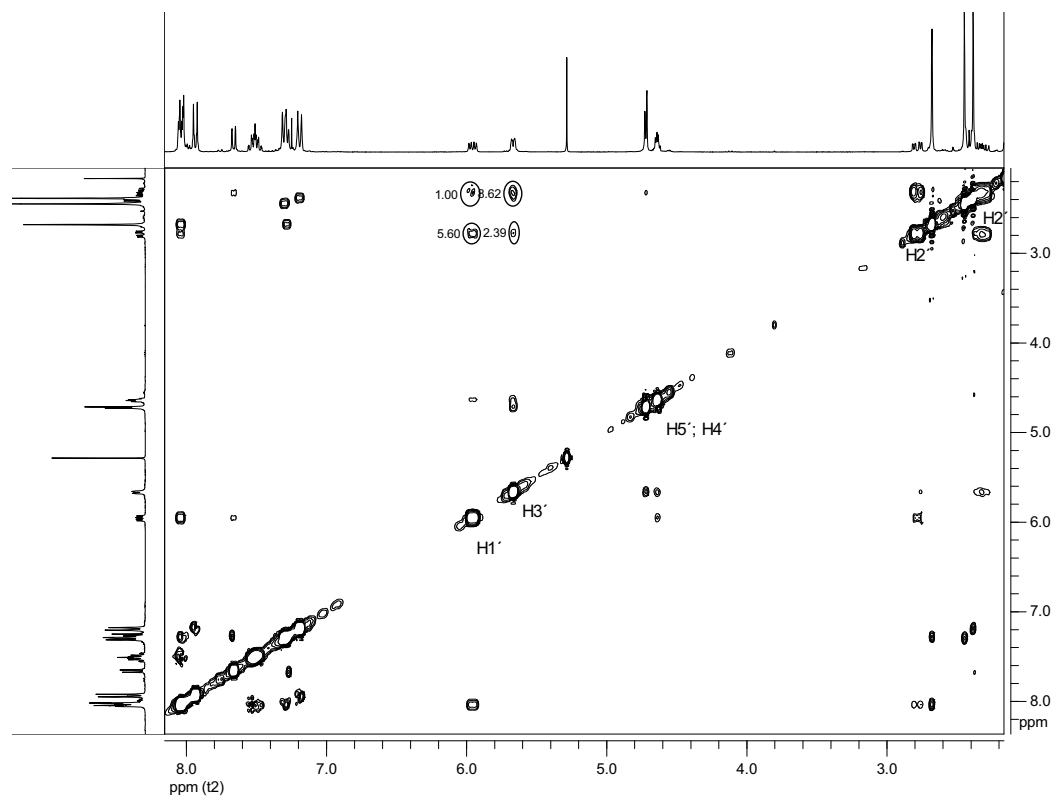
α -1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-benzothiophenyl)ribofuranose (134fa)¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)¹³C-NMR (75.5 MHz; CDCl₃)

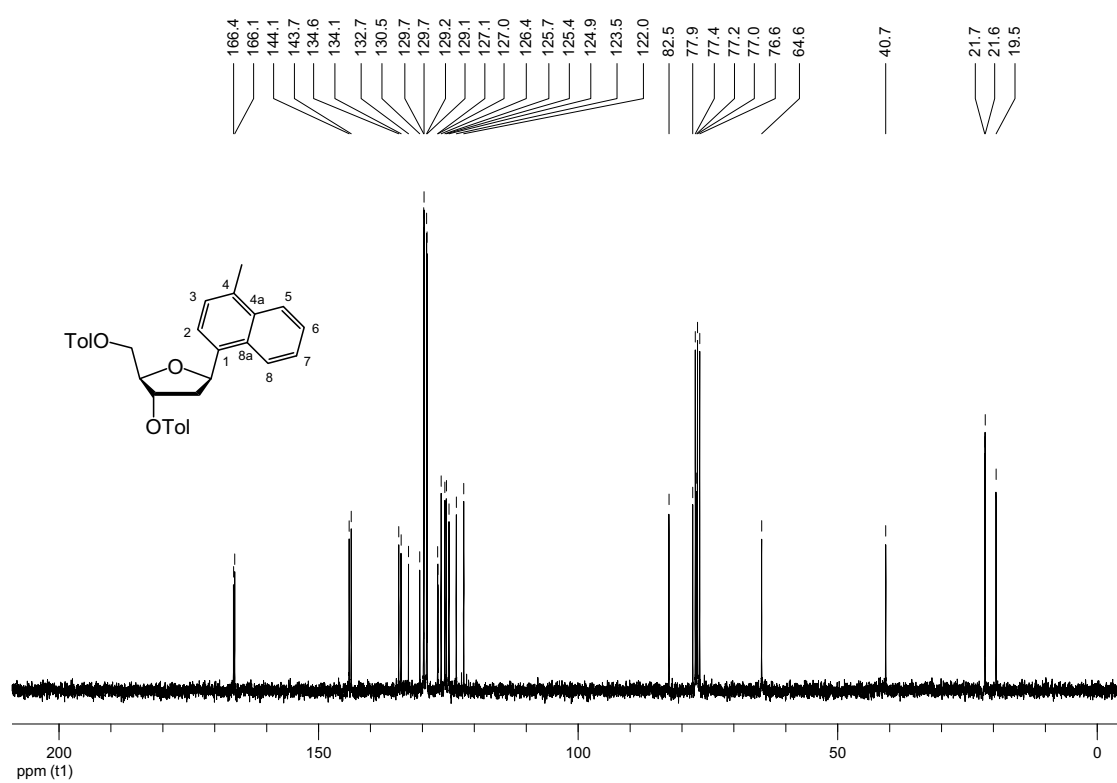
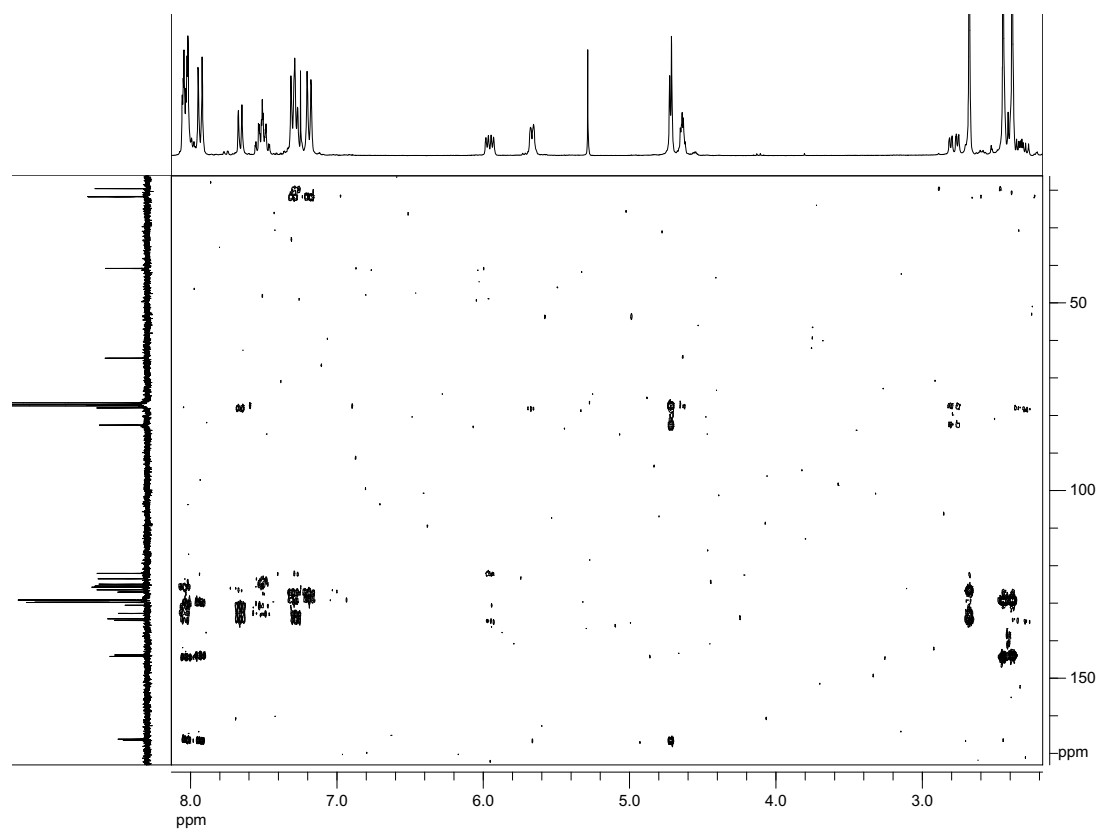
β -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(1-(4-methyl)naphthyl)ribofuranose (134g β)

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; CDCl_3)

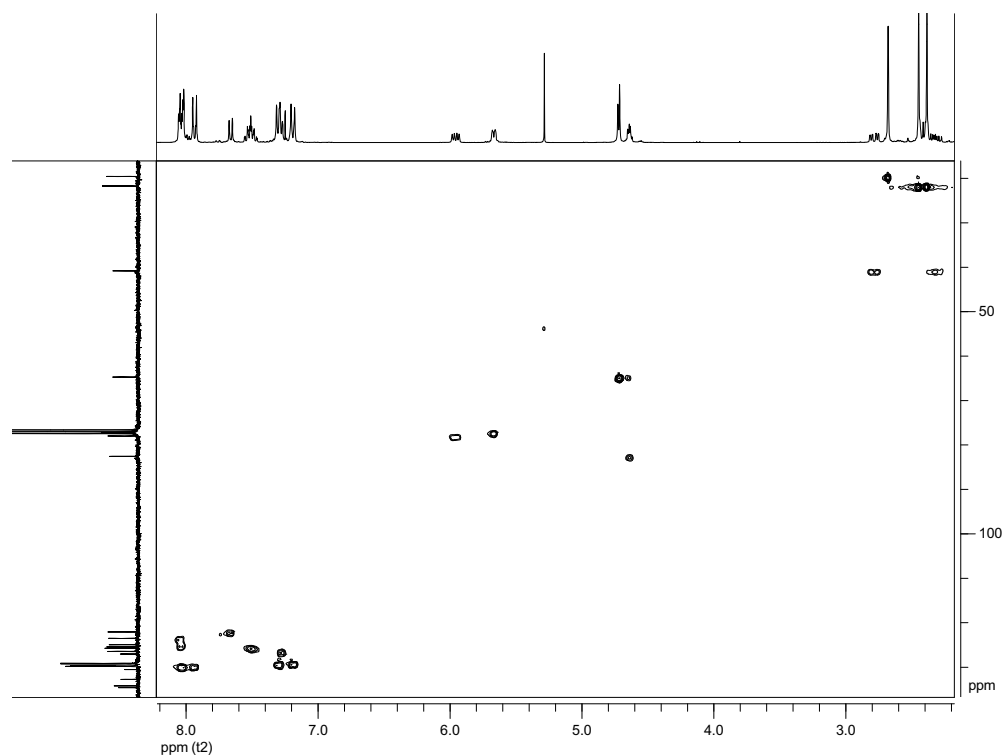


NOESY (300 MHz; CDCl_3)



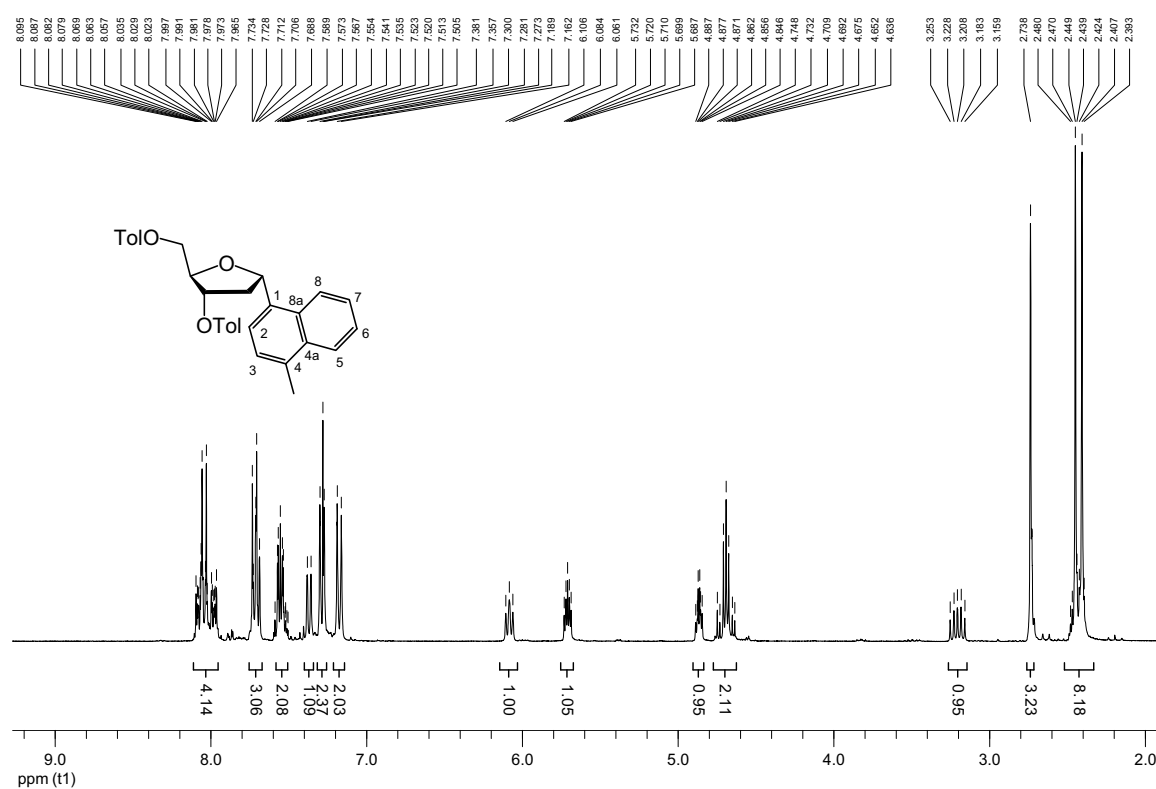
^{13}C -NMR (75.5 MHz; CDCl_3)HMBC (300 MHz; CDCl_3)

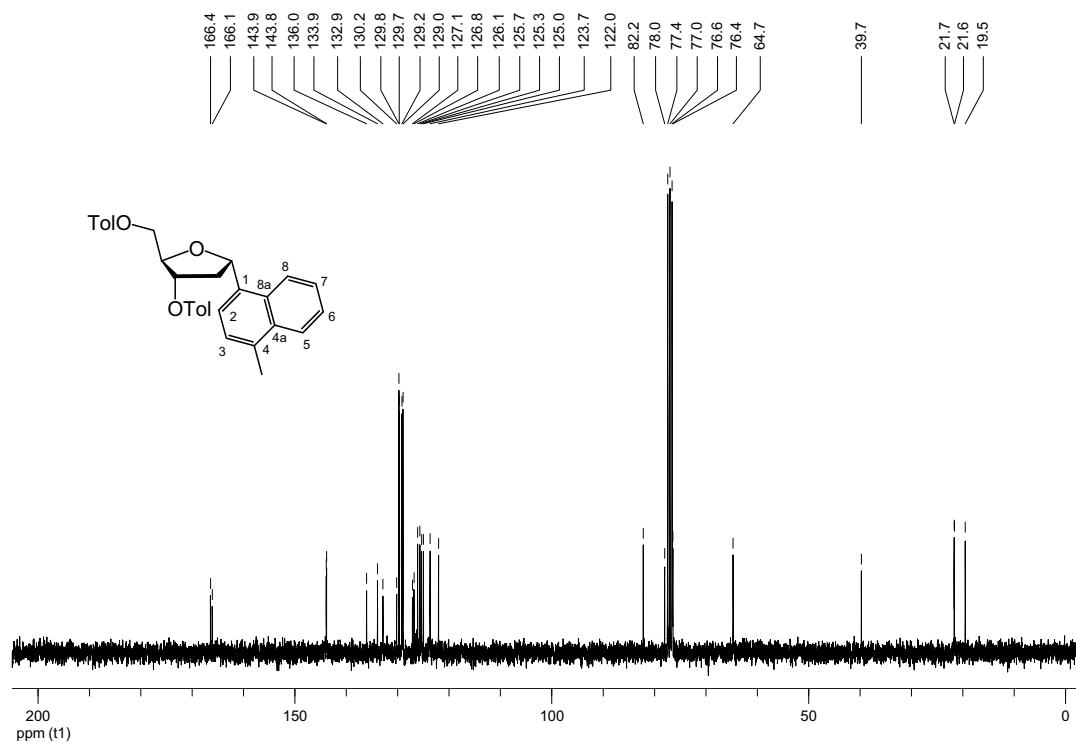
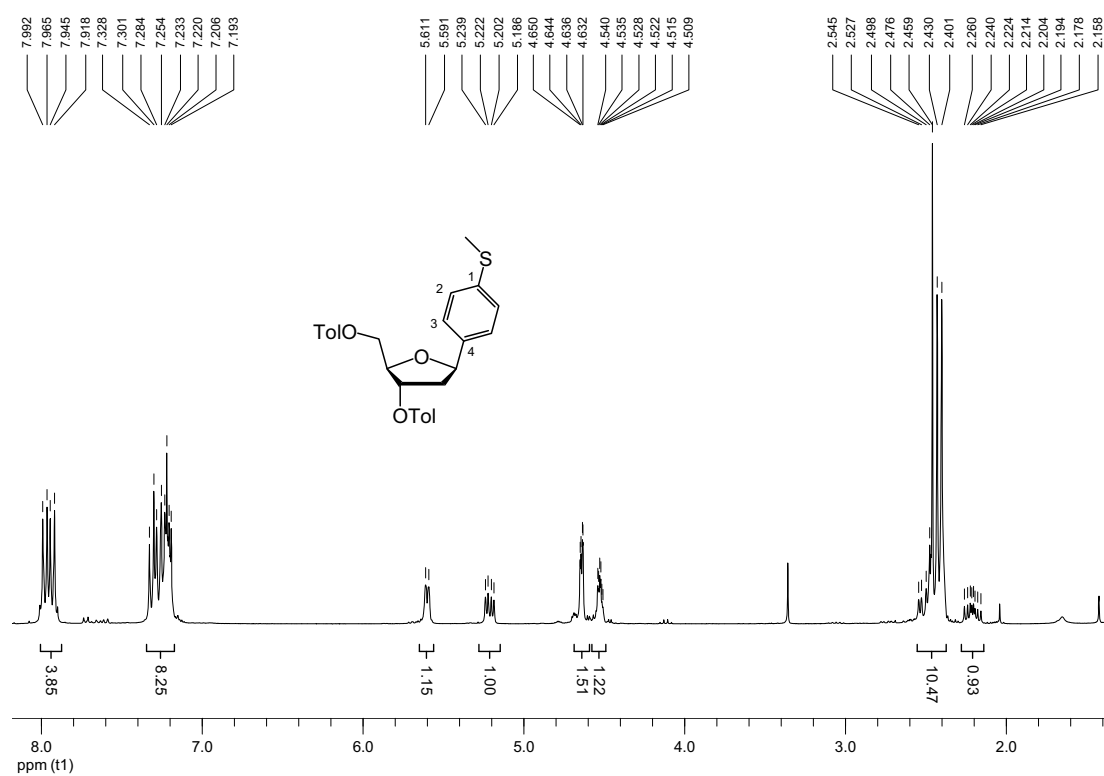
HMQC (300 MHz; CDCl₃)

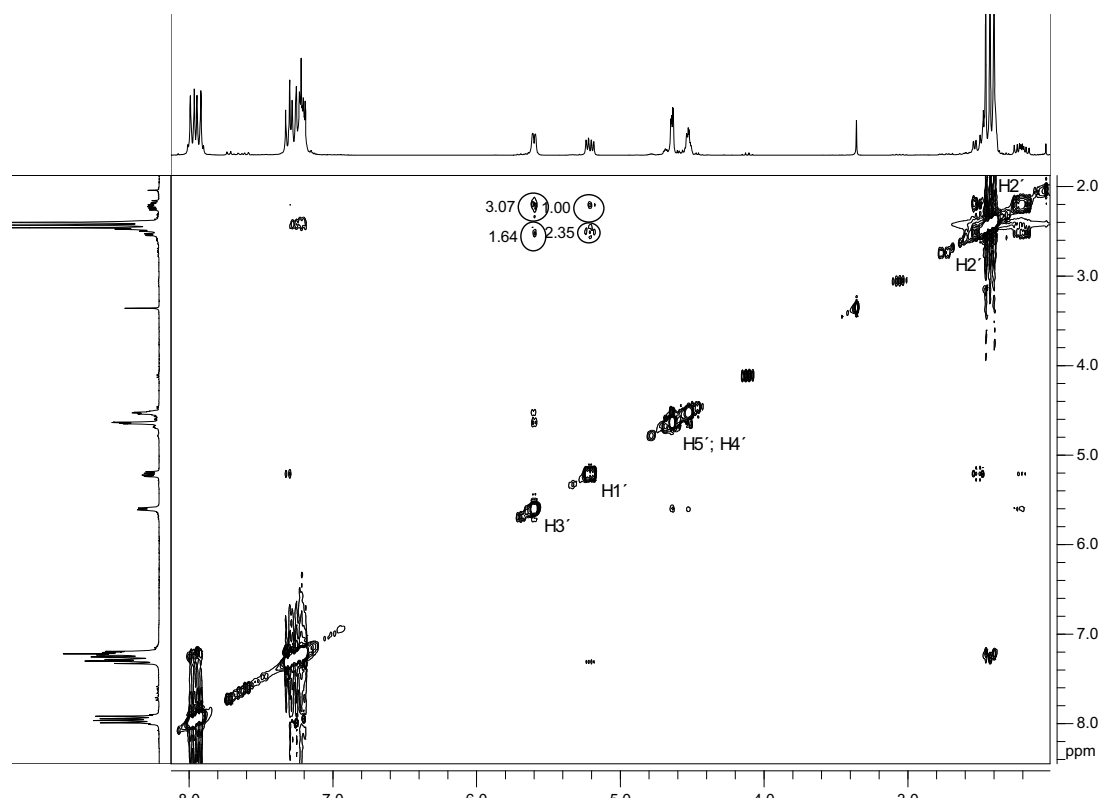
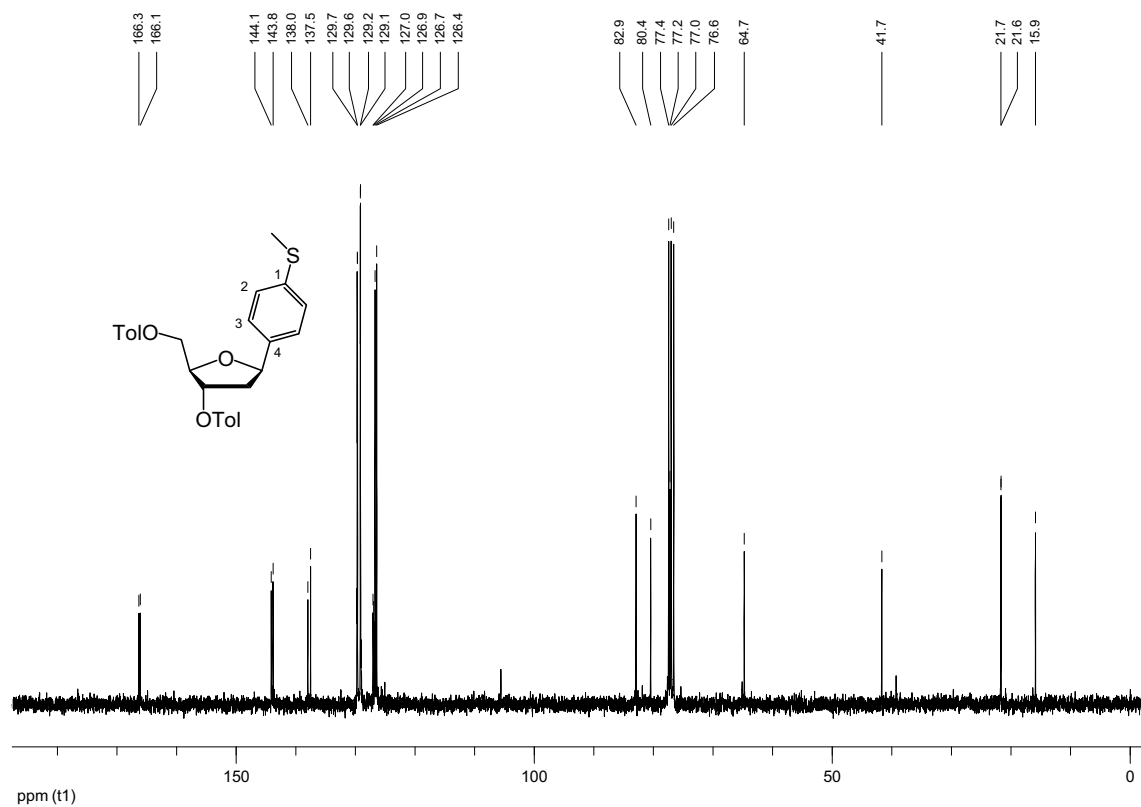


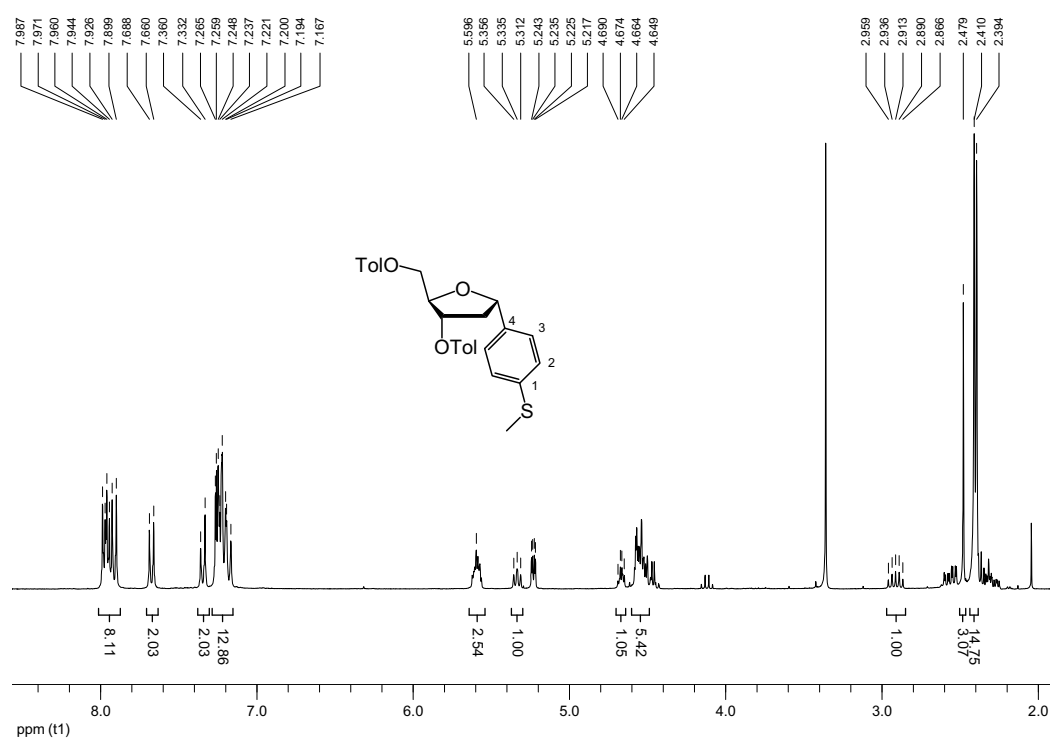
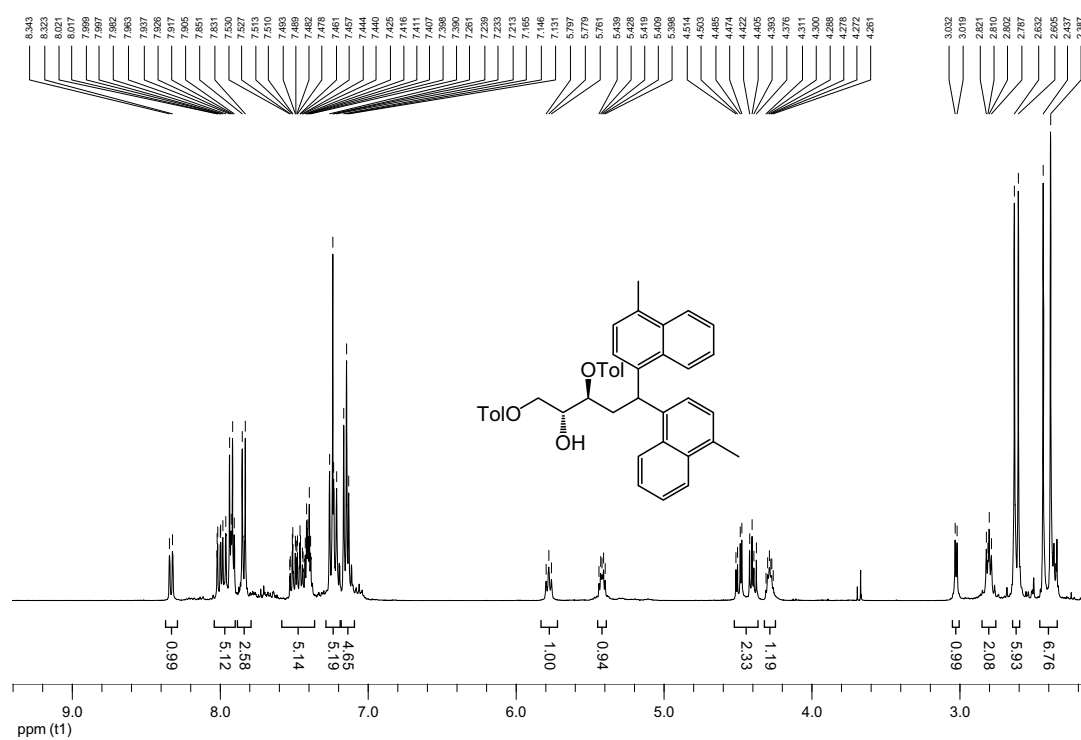
***α*-1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(1-(4-methyl)naphthyl)ribofuranose (134g_a)**

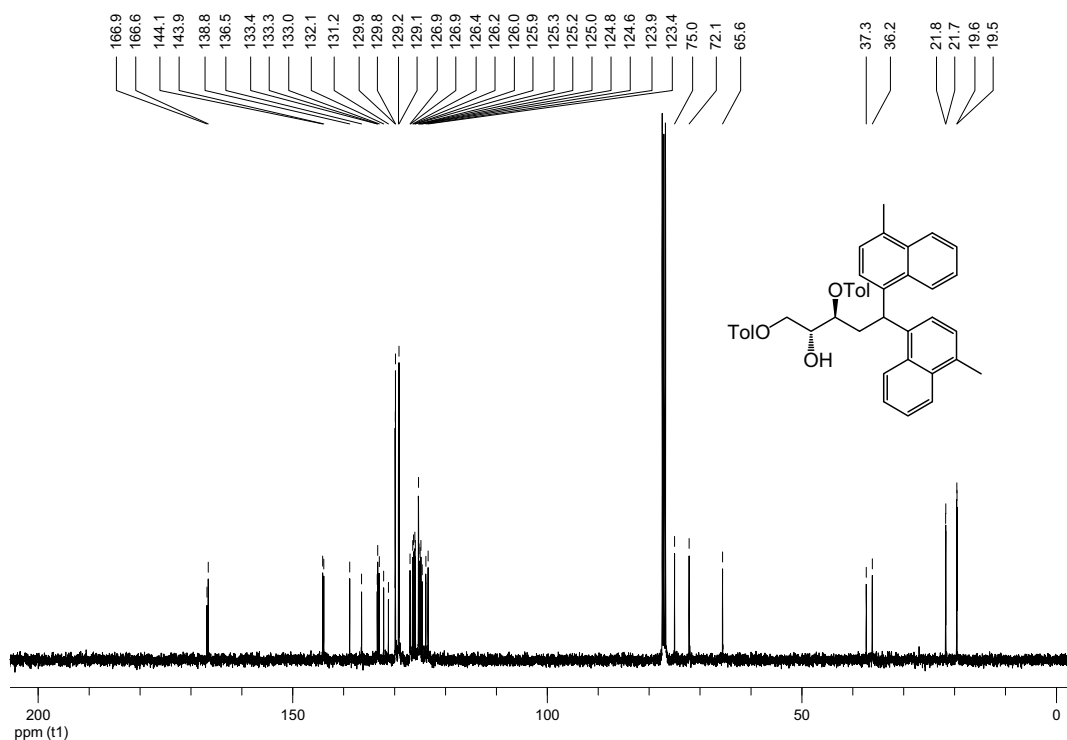
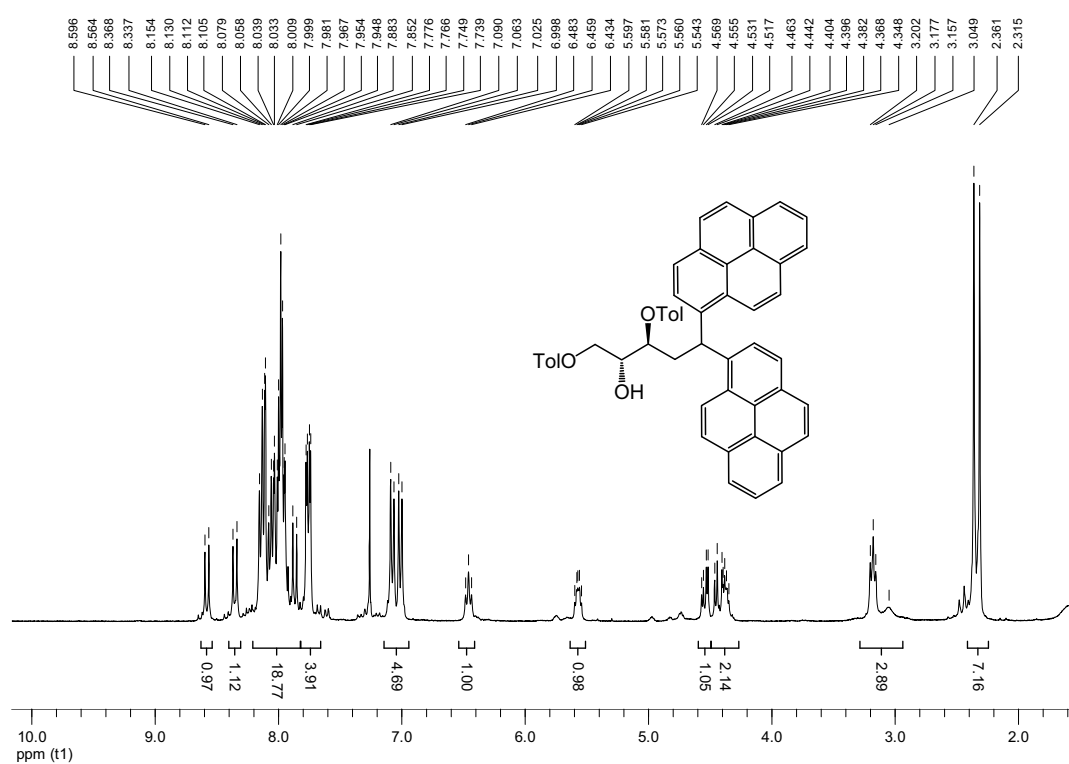
¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)

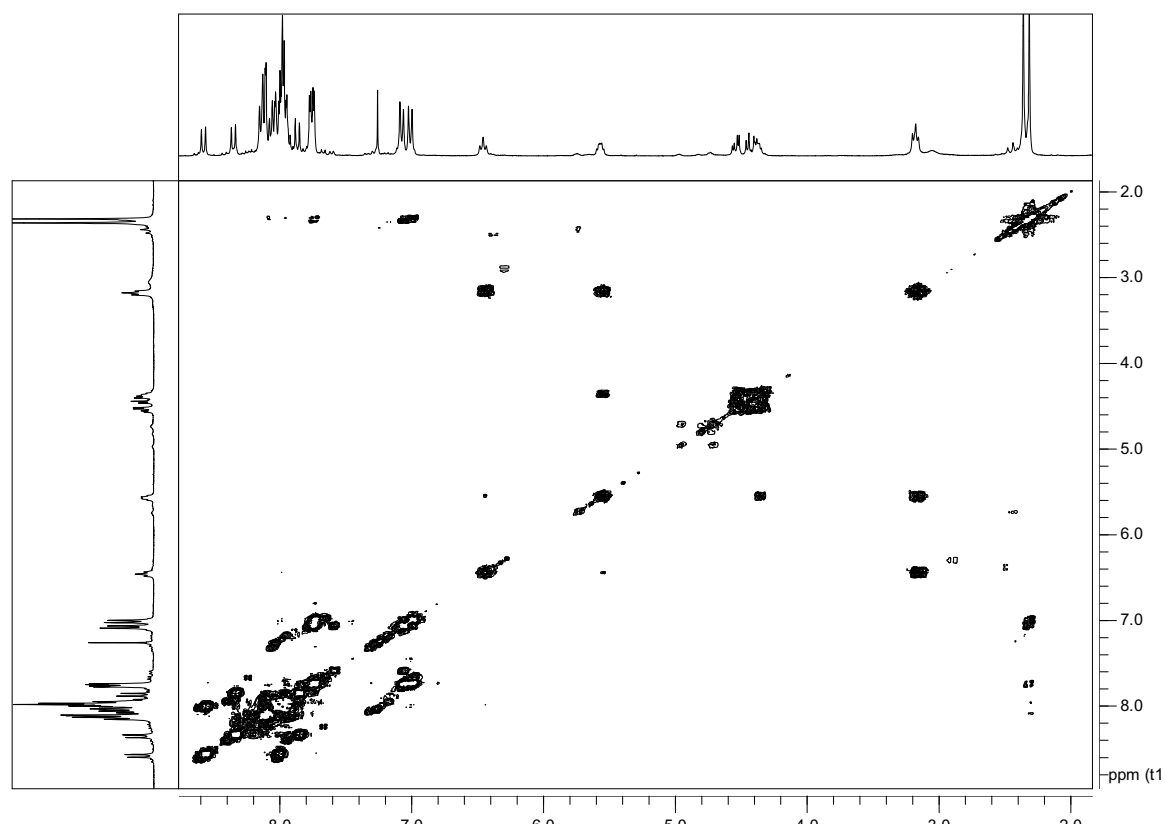
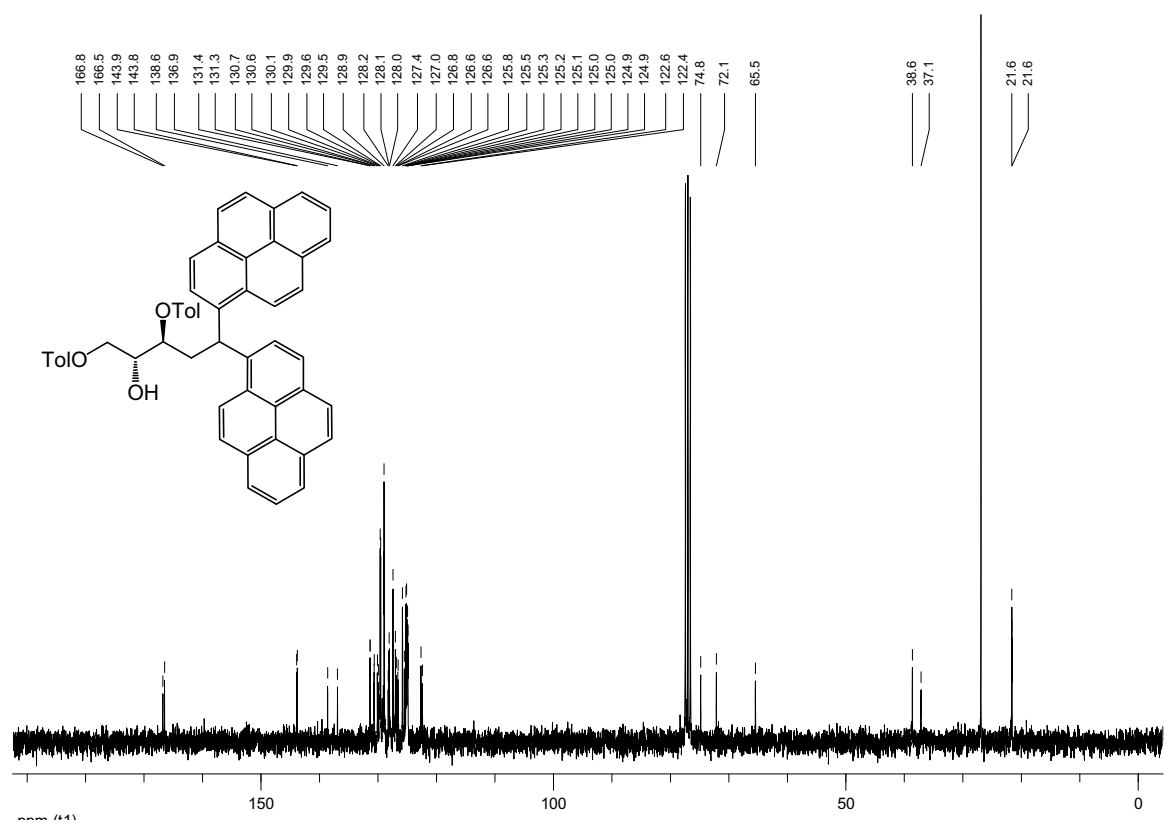


^{13}C -NMR (75.5 MHz; CDCl_3) β -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(4-(methylthio)phenyl)ribofuranose (134h β) ^1H -NMR (300 MHz; CDCl_3)

NOESY (300 MHz; CDCl₃)¹³C-NMR (75.5 MHz; CDCl₃)

¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)

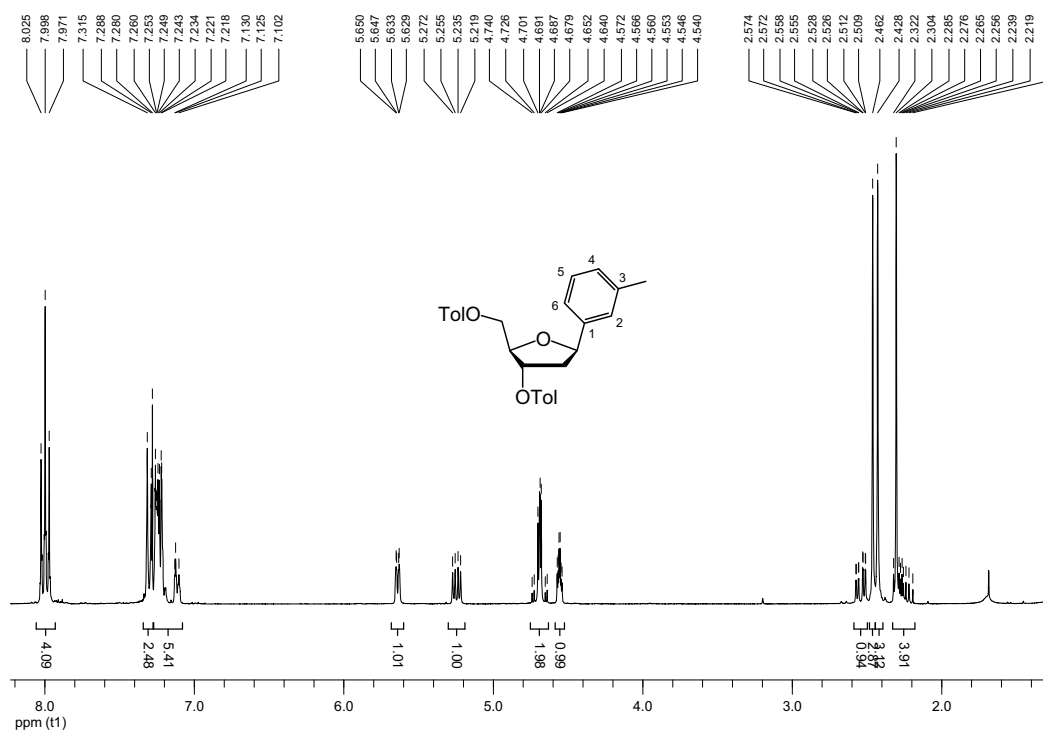
^{13}C -NMR (75.5 MHz; CDCl_3)**(2R,3S)-2-Hydroxy-5,5-dipyrenylpentyl 1,3-ditoluoat (135)** ^1H -NMR (300 MHz; CDCl_3)

^1H -COSY (300 MHz; CDCl_3) ^{13}C -NMR (75.5 MHz; CDCl_3)

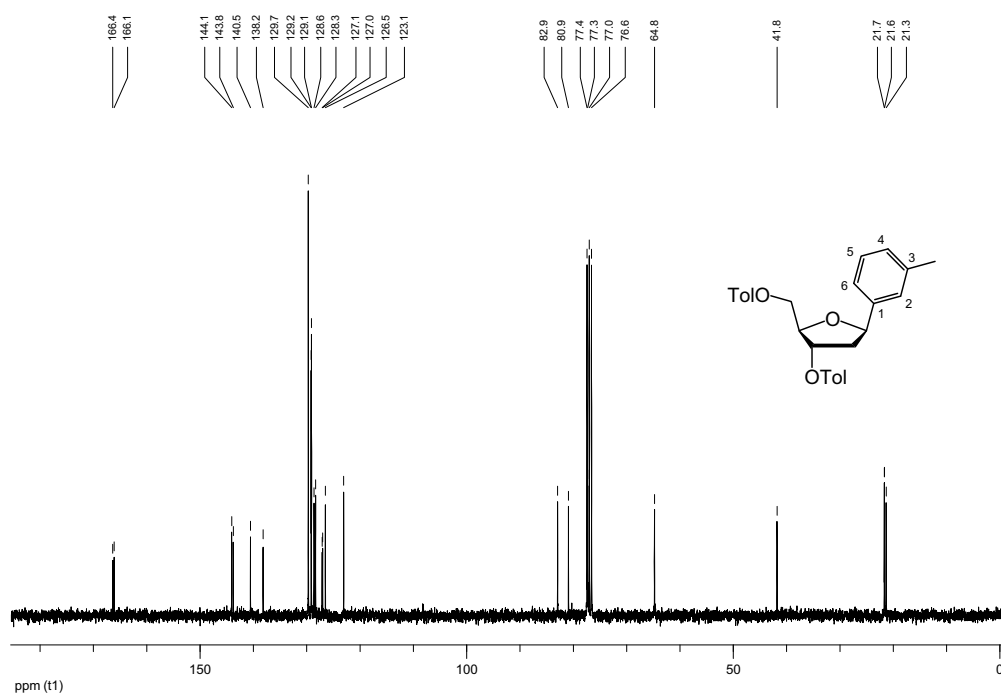
Cuprat-vermittelte Synthese und Epimerisierung

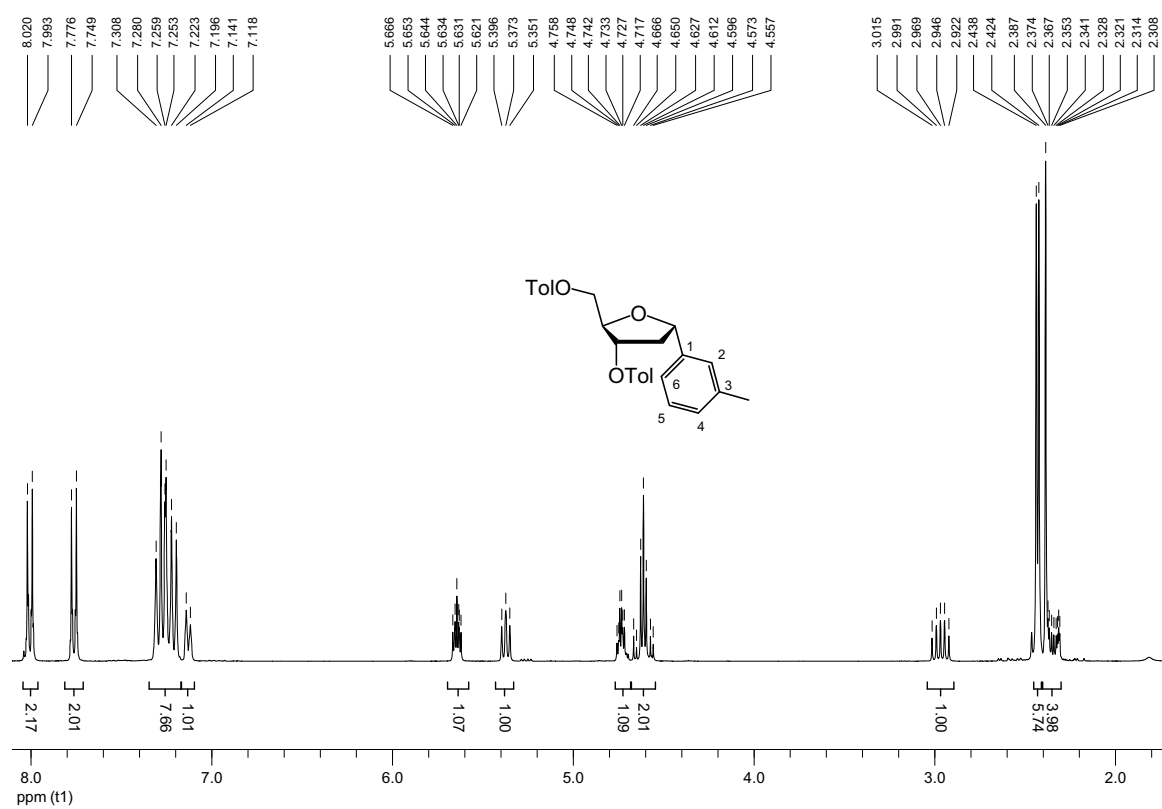
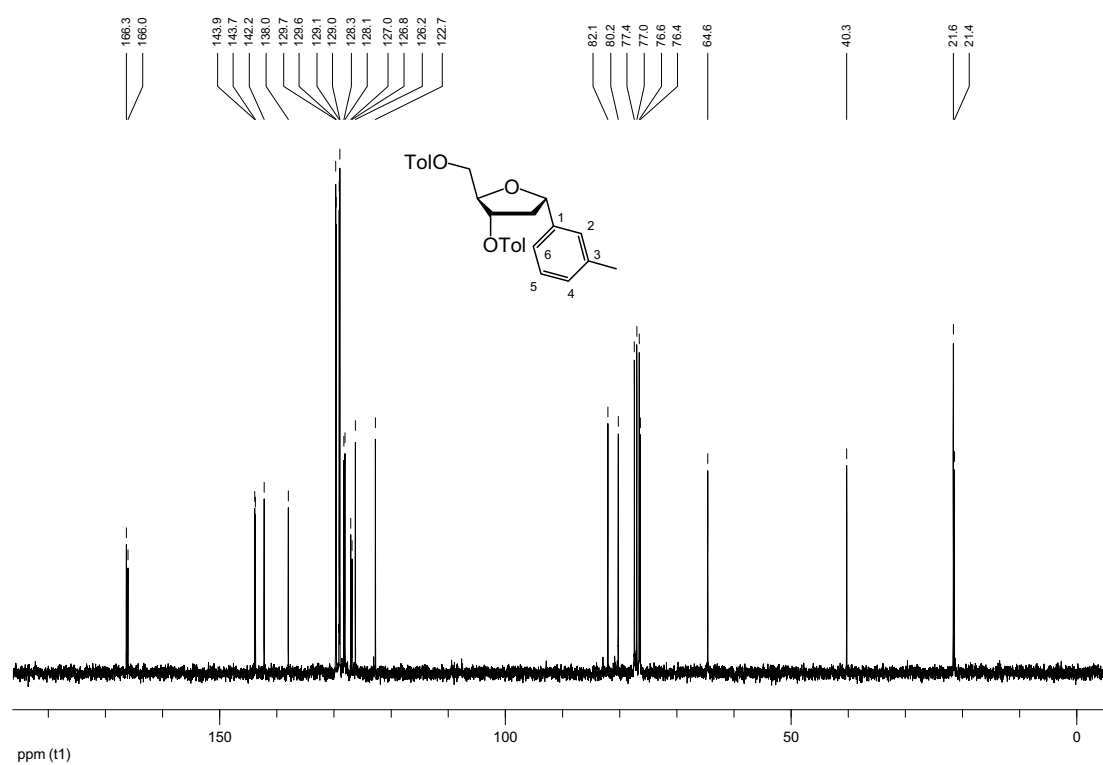
β -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-tolyl)ribofuranose (134i β)

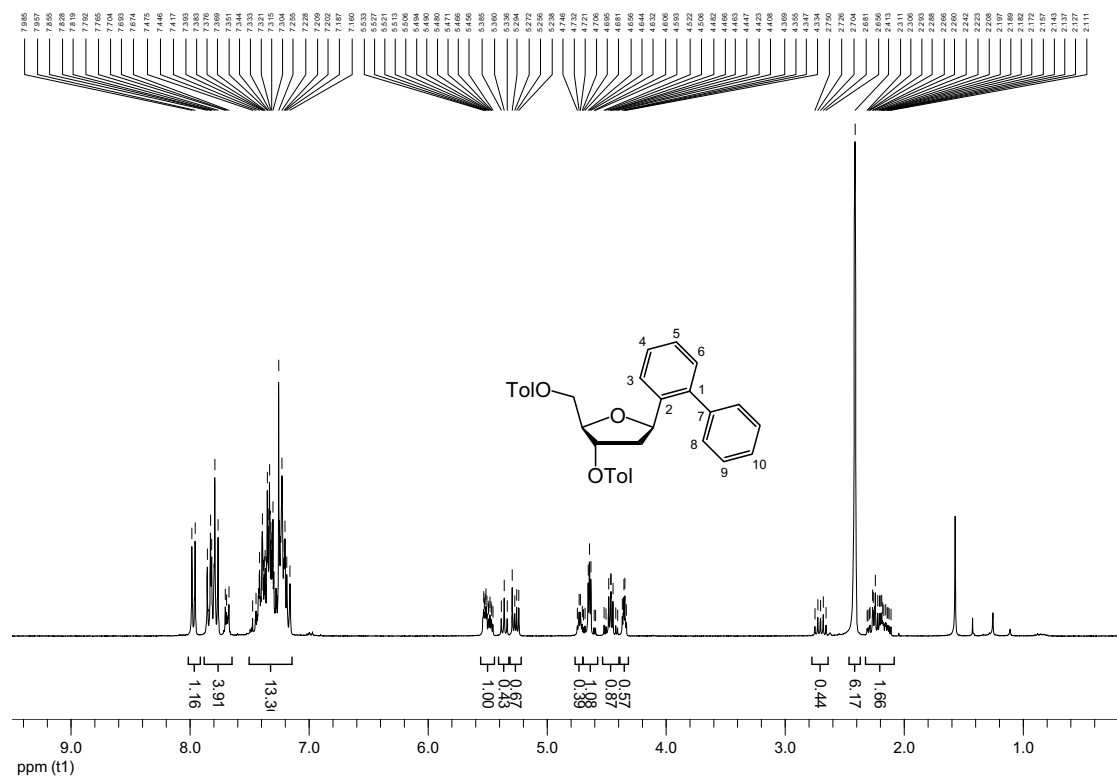
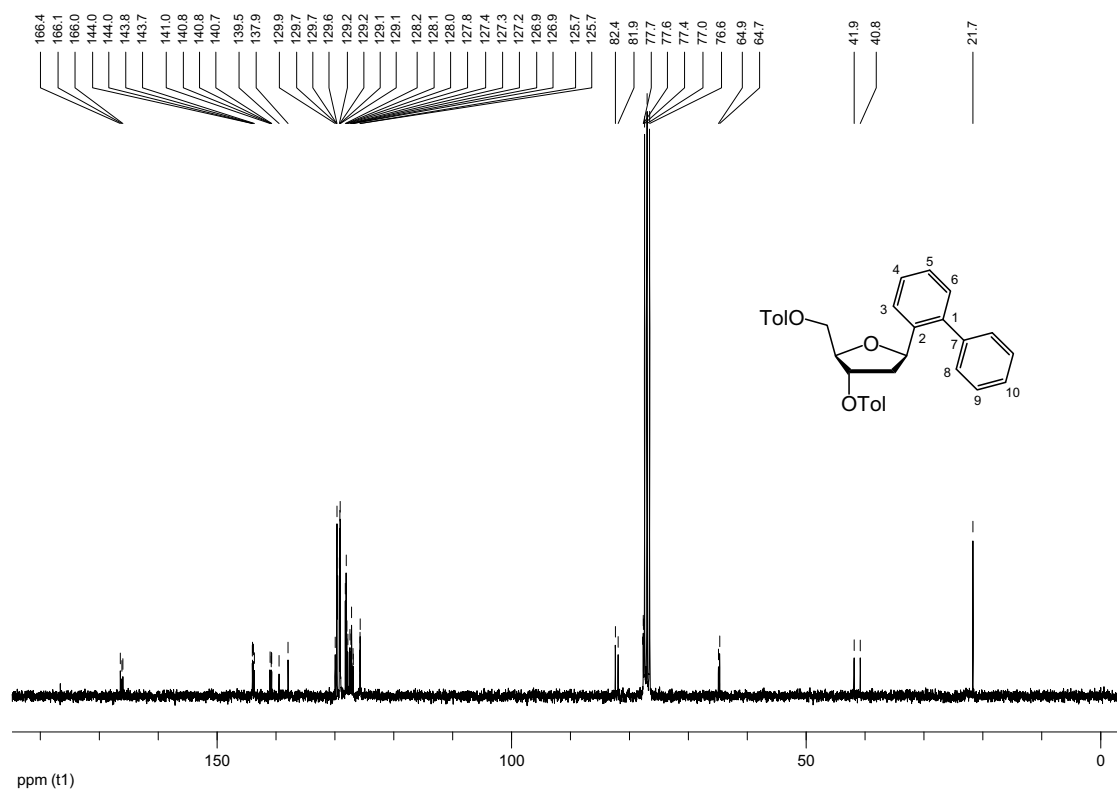
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; CDCl_3)



$^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz; CDCl_3)

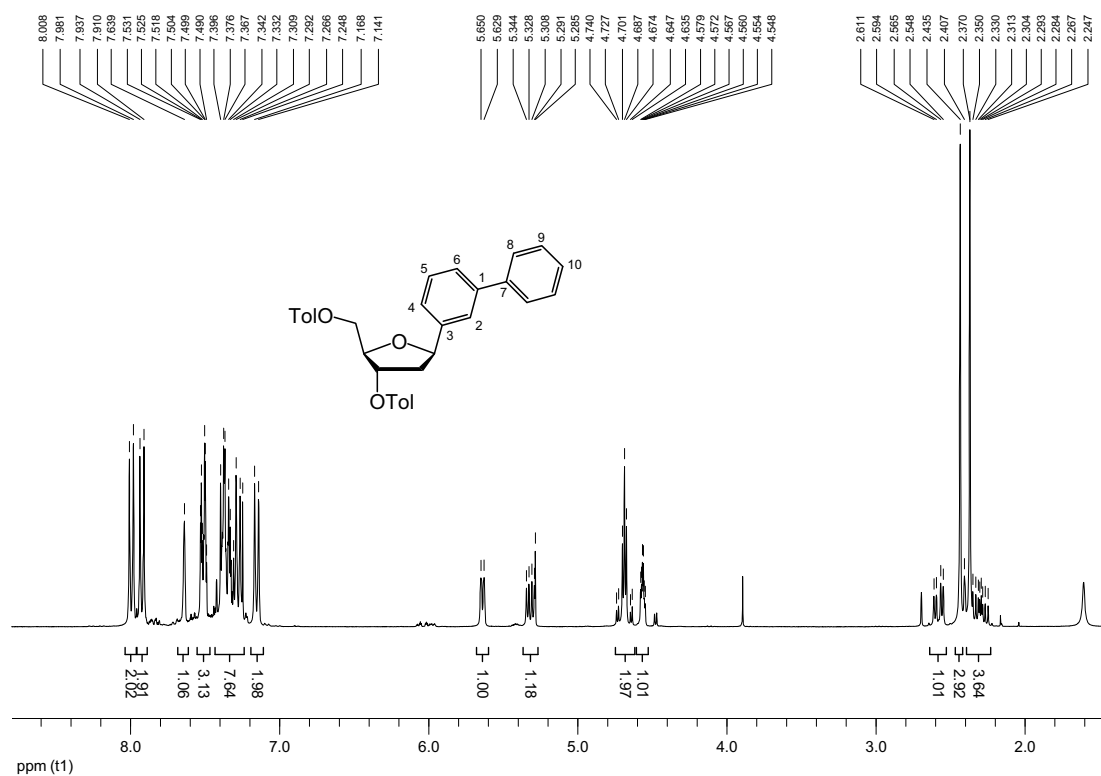


α -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-tolyl)ribofuranose (134ia)¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)¹³C-NMR (75 MHz; CDCl₃)

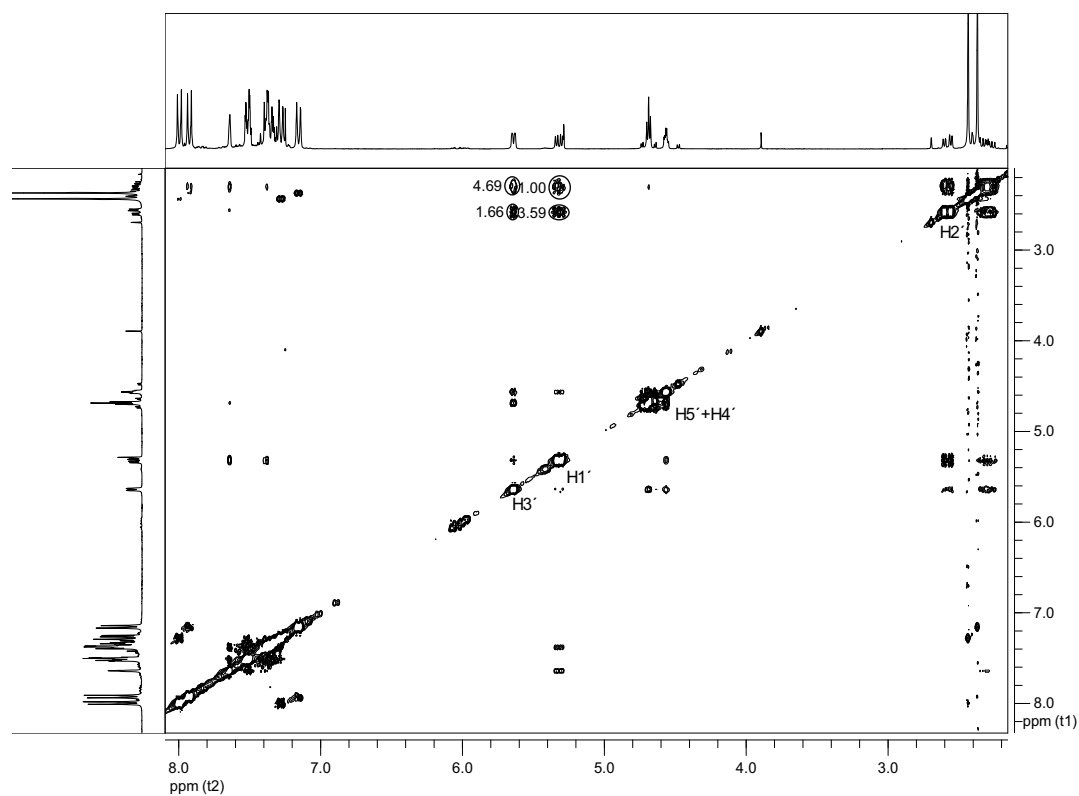
α,β -1',2'-Didesoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(2-biphenyl)ribofuranose (134ja β)¹H-NMR (400 MHz; CDCl₃)¹³C-NMR(75.5 MHz; CDCl₃)

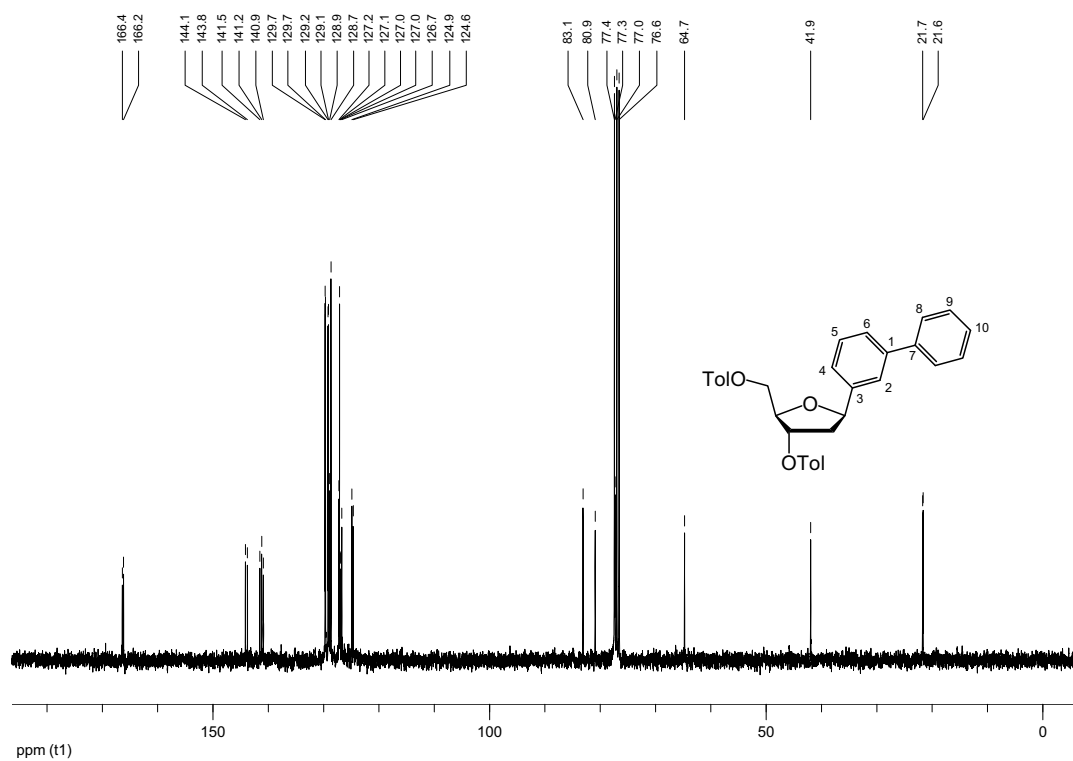
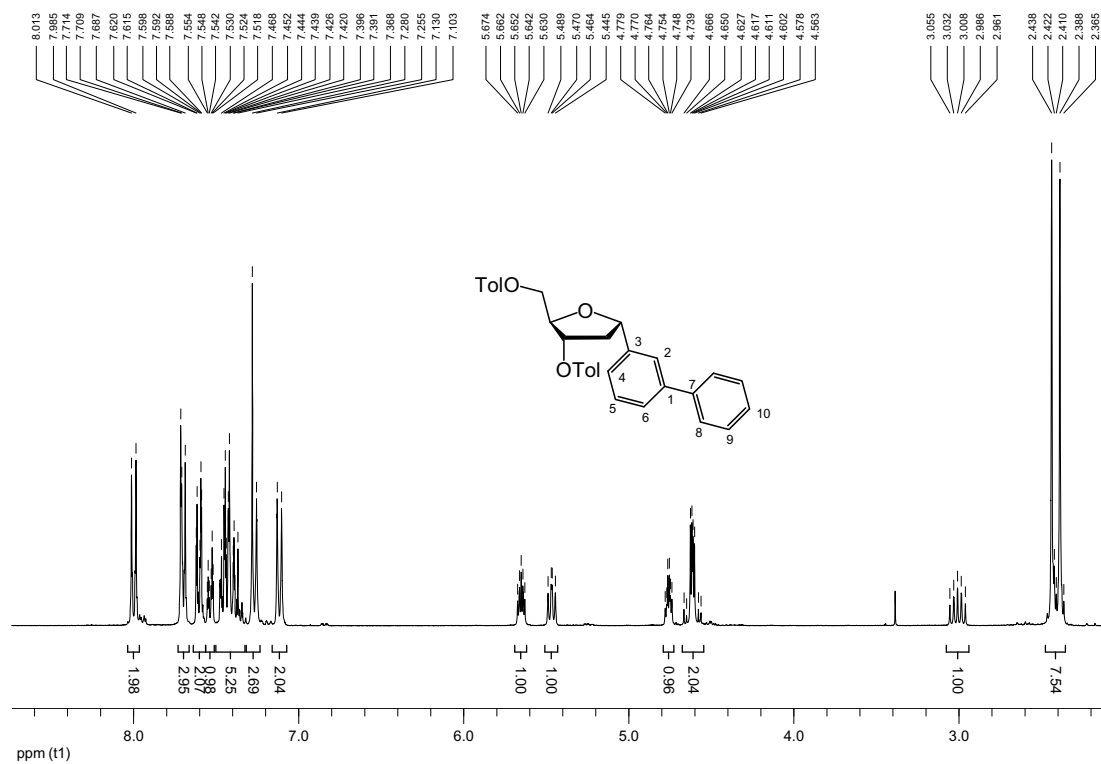
β -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-biphenyl)ribofuranose (134k β)

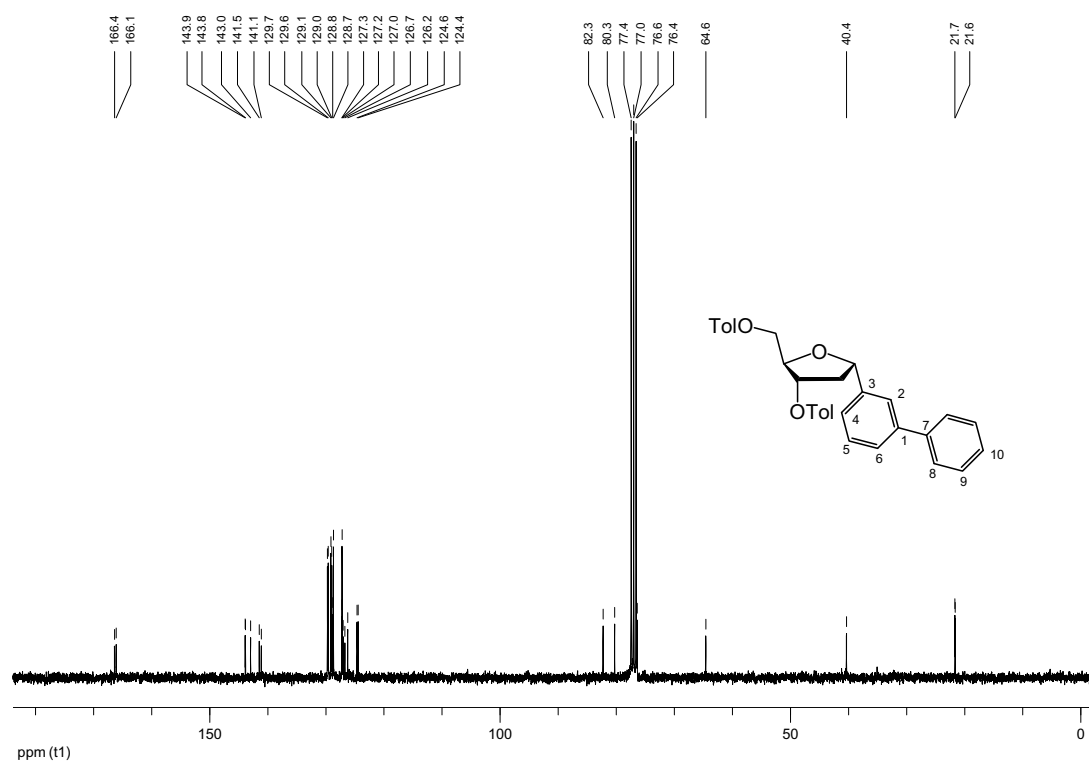
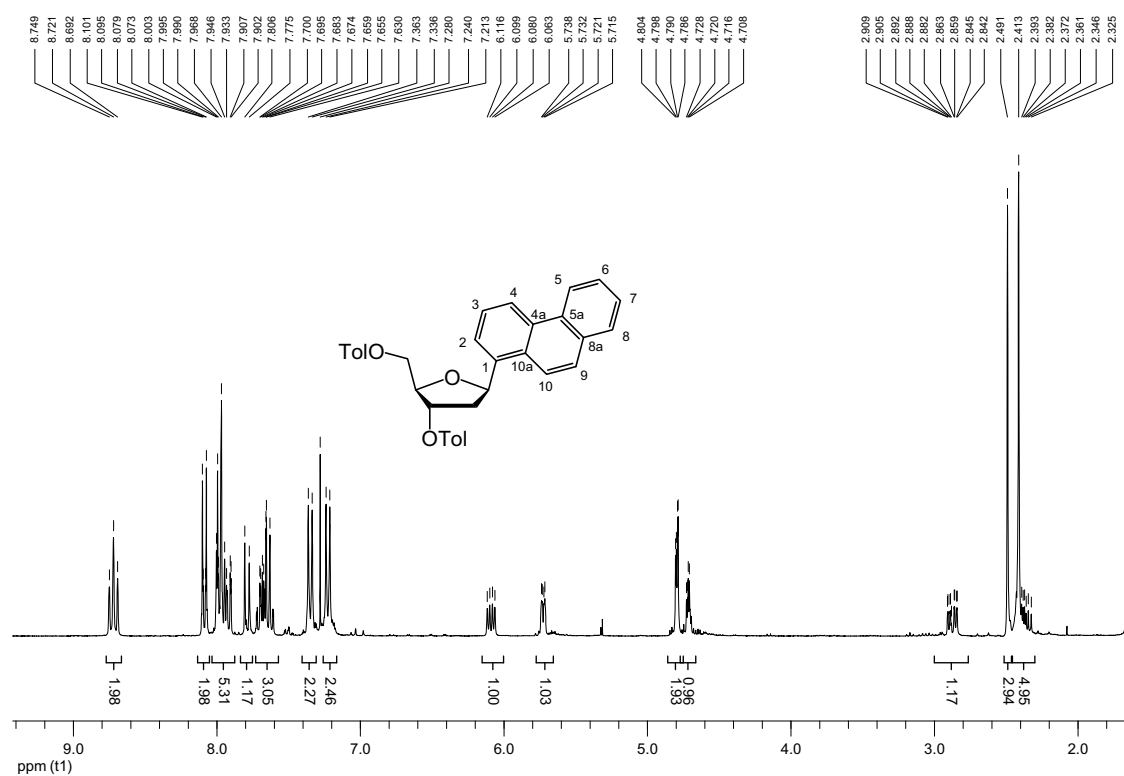
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz; CDCl_3)

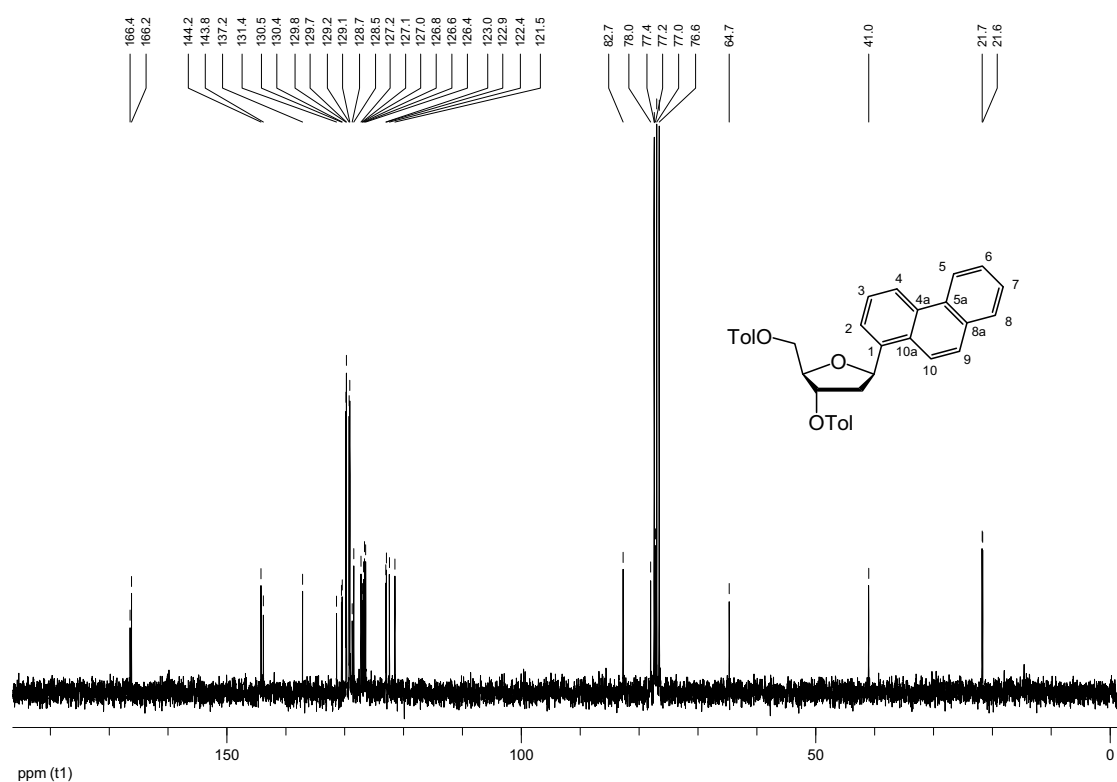
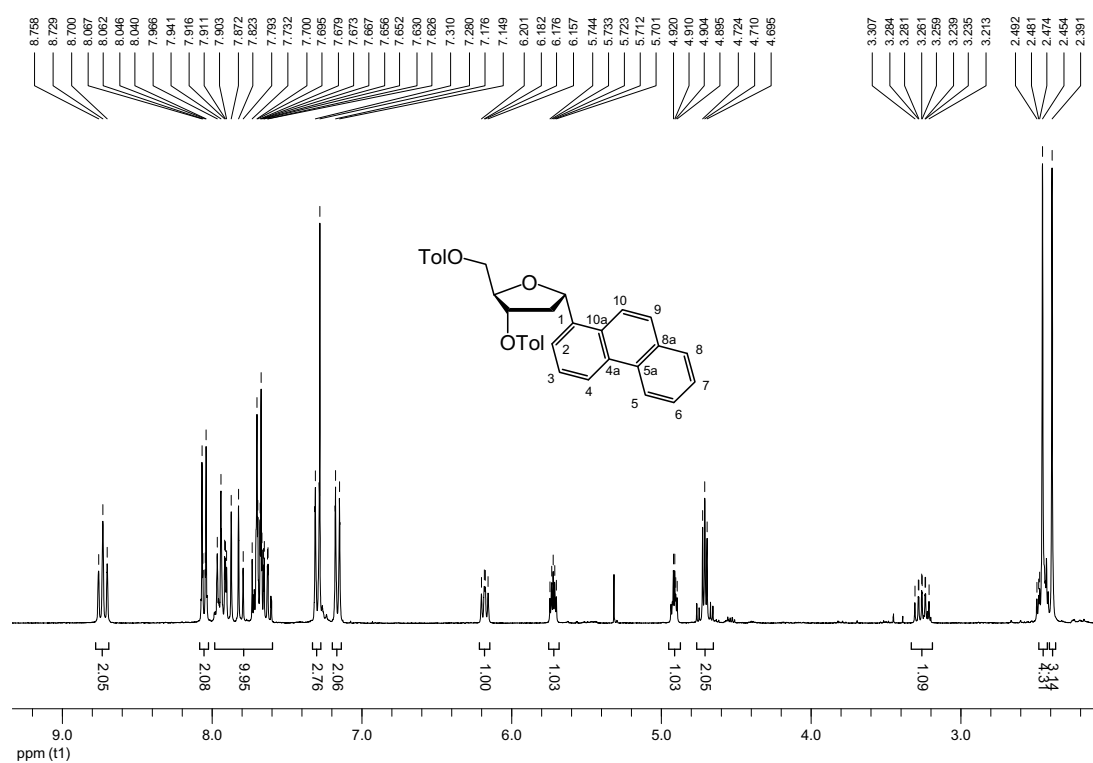


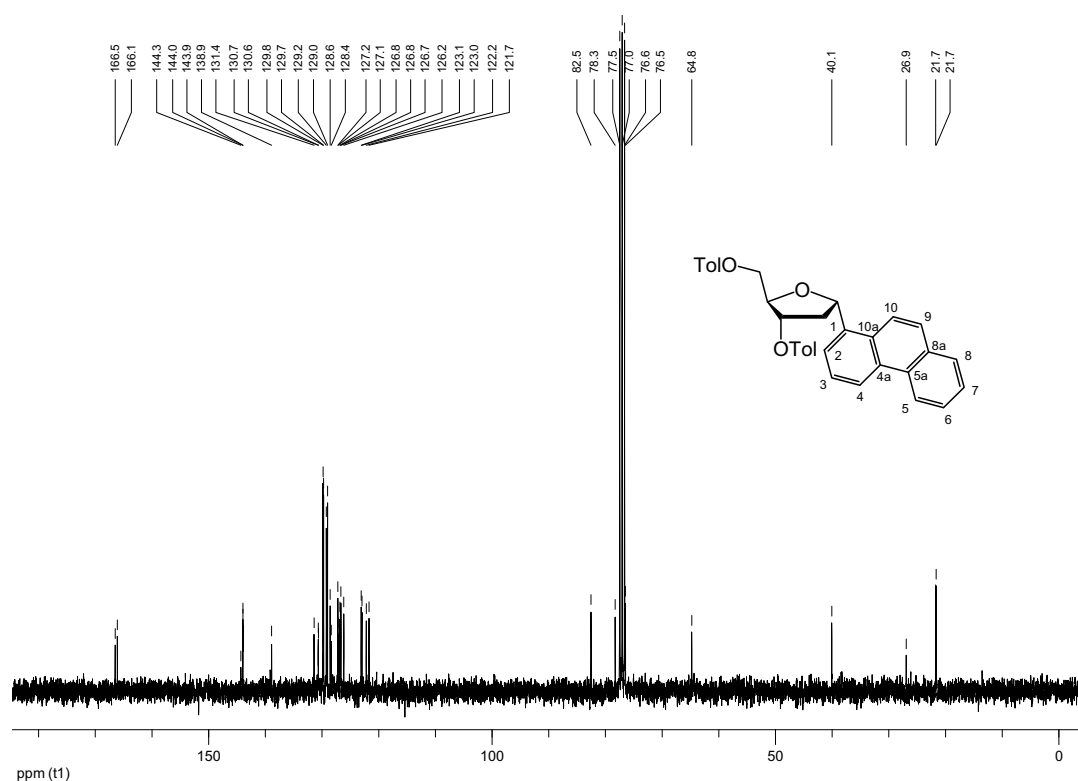
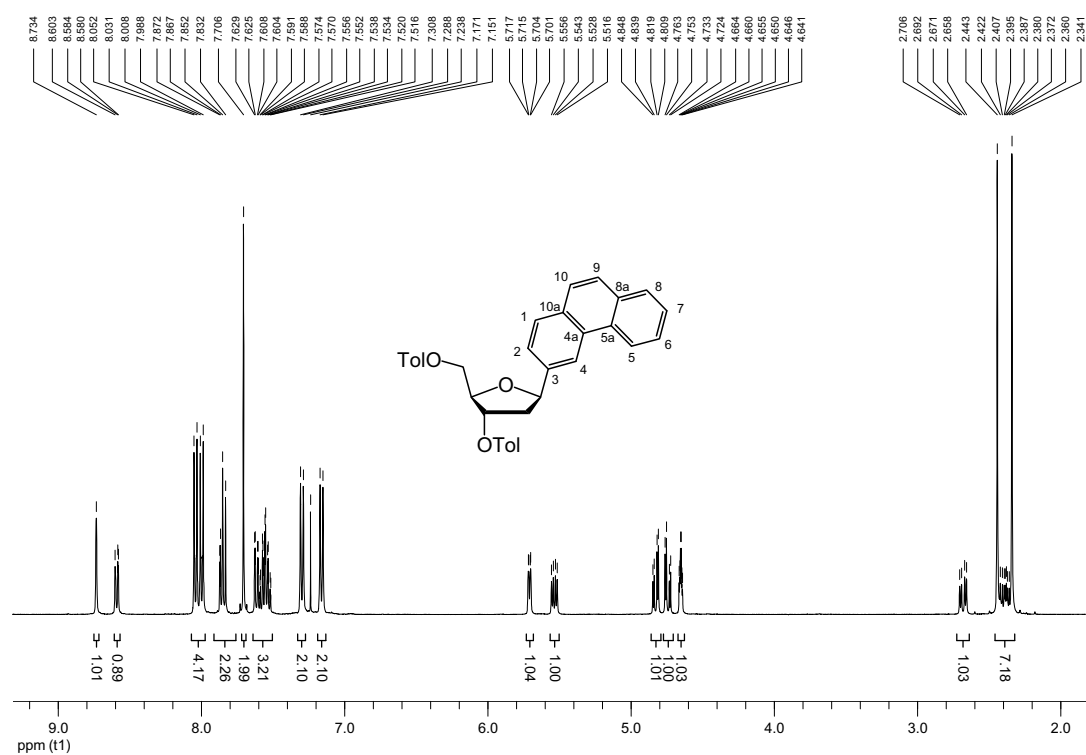
NOESY(300 MHz; CDCl_3)

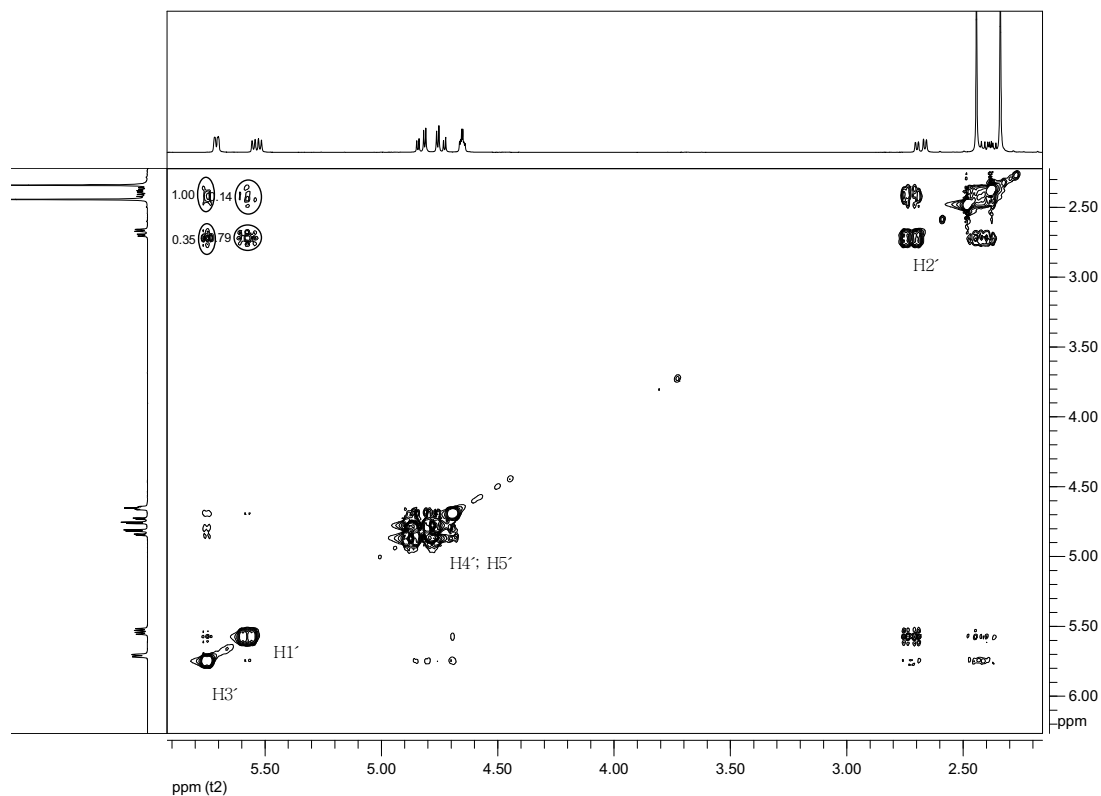
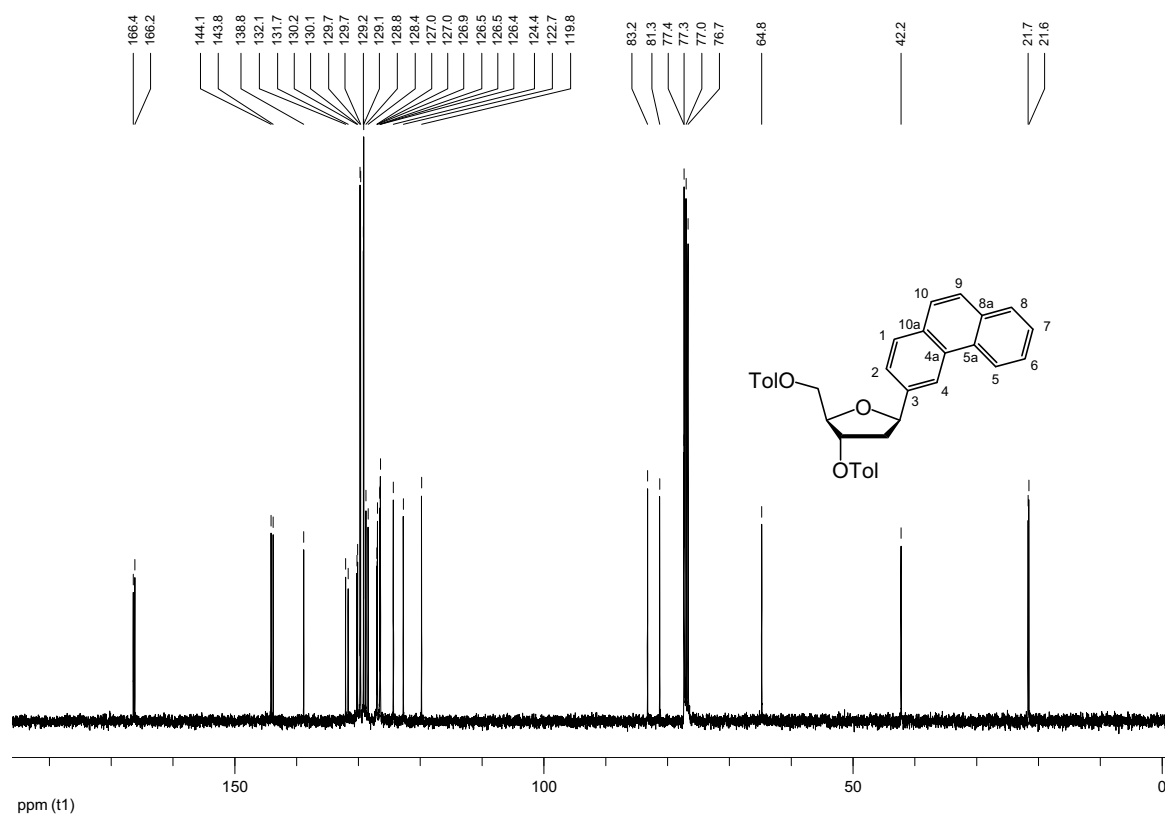


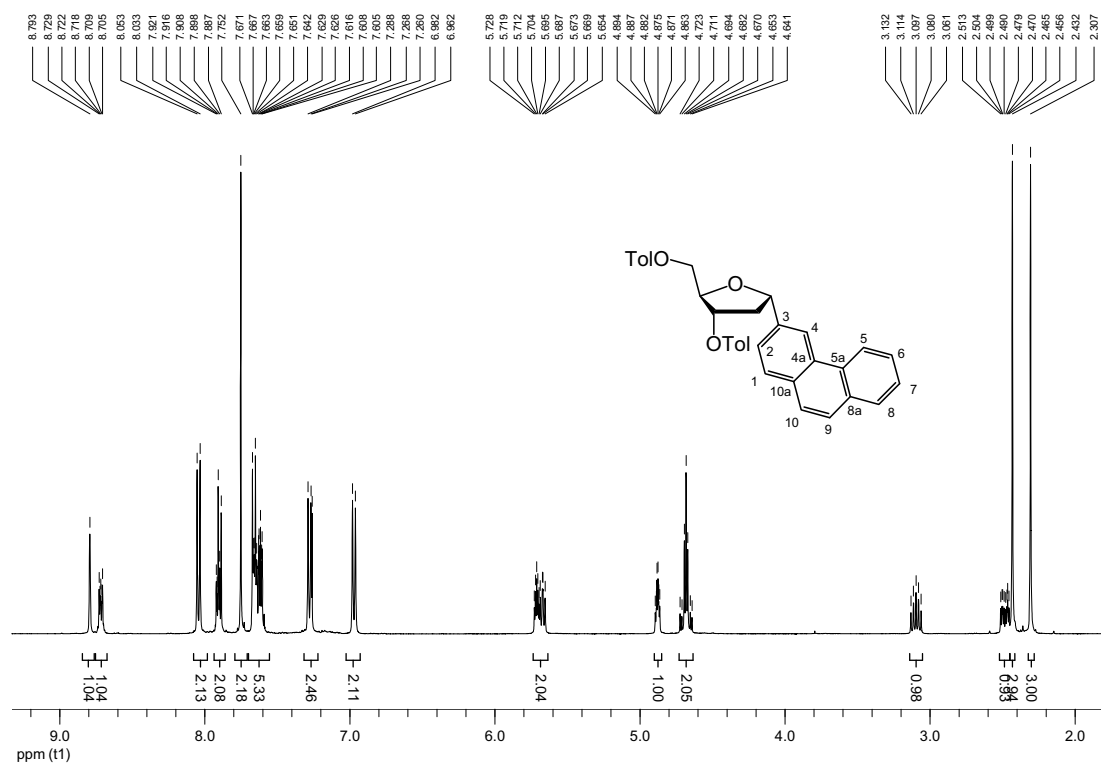
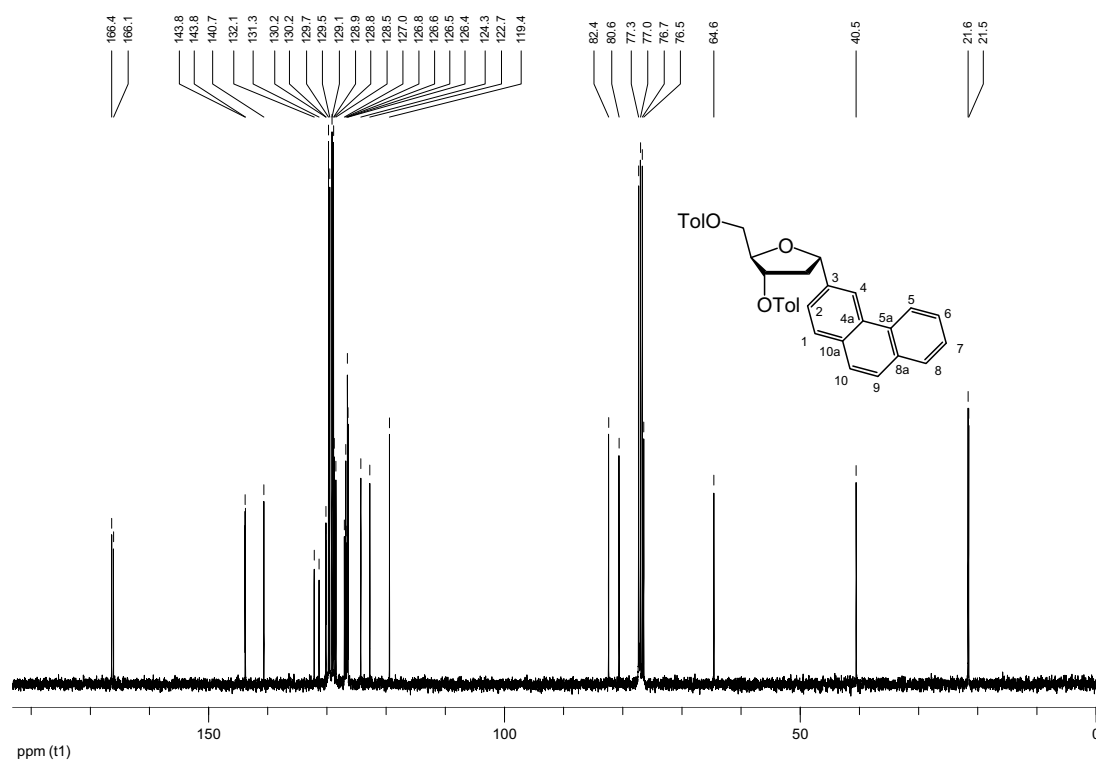
^{13}C -NMR(75.5 MHz; CDCl_3) α -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-biphenyl)ribofuranose (134ka) ^1H -NMR (300 MHz; CDCl_3)

^{13}C -NMR(75.5MHz; CDCl_3) β -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-O-toluoyle-1'-(1-phenanthrenyl)ribofuranose (134| β) ^1H -NMR (300 MHz; CDCl_3)

^{13}C -NMR(75.5 MHz; CDCl_3) α -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(1-phenanthrenyl)ribofuranose (134la) ^1H -NMR (300 MHz; CDCl_3)

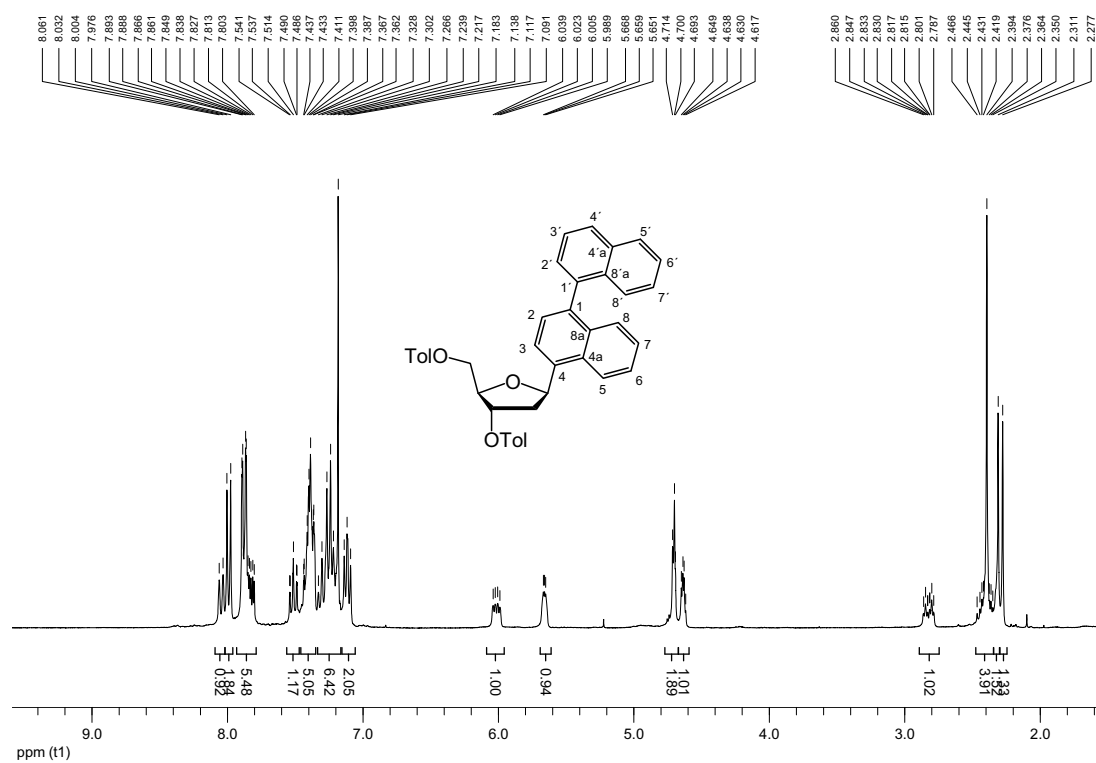
^{13}C -NMR (75.5MHz ; CDCl_3) β -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-O-toluo-1'-(3-phenanthrenyl)ribofuranose (134m β) ^1H -NMR (400 MHz; CDCl_3)

Ausschnitt aus NOESY (300 MHz; CDCl₃)¹³C-NMR (100.6 MHz; CDCl₃)

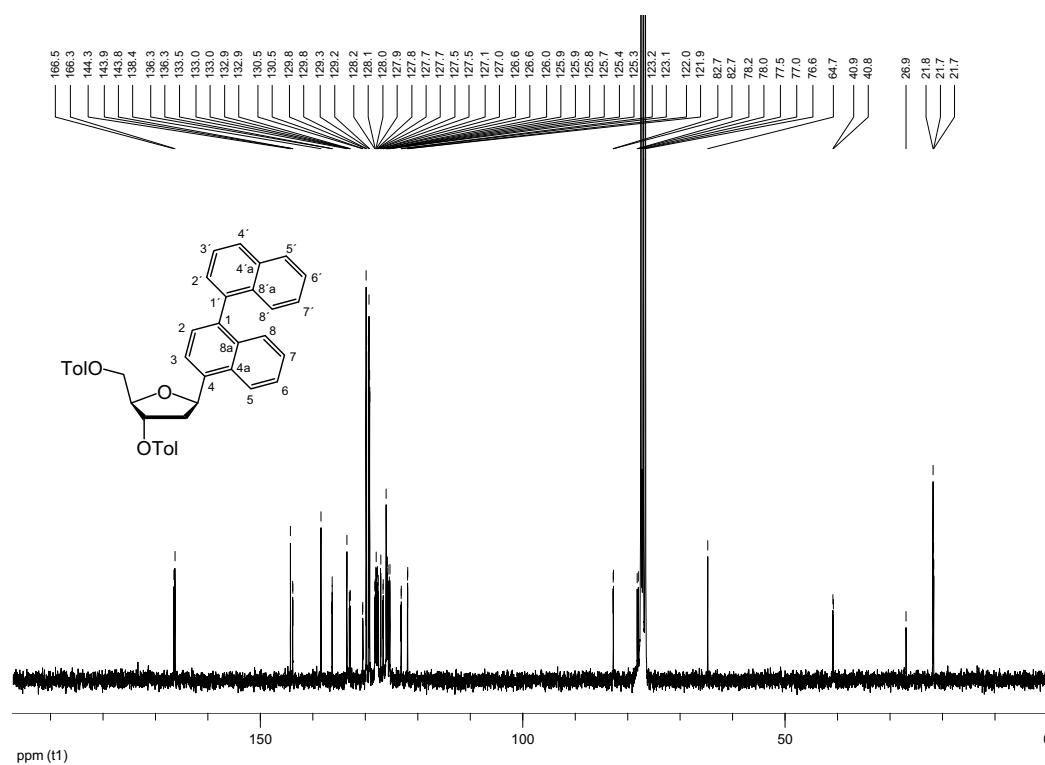
α -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-phenanthrenyl)ribofuranose (134m α)¹H-NMR (400 MHz; CDCl₃)¹³C-NMR (100.6 MHz ; CDCl₃)

β -1'',2''-Didesoxy-3'',5''-di-*O*-toluoyl-1''-(*R,S*-[1,1']-binaphthalen-4-yl)ribofuranose (134n β)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz; CDCl_3)

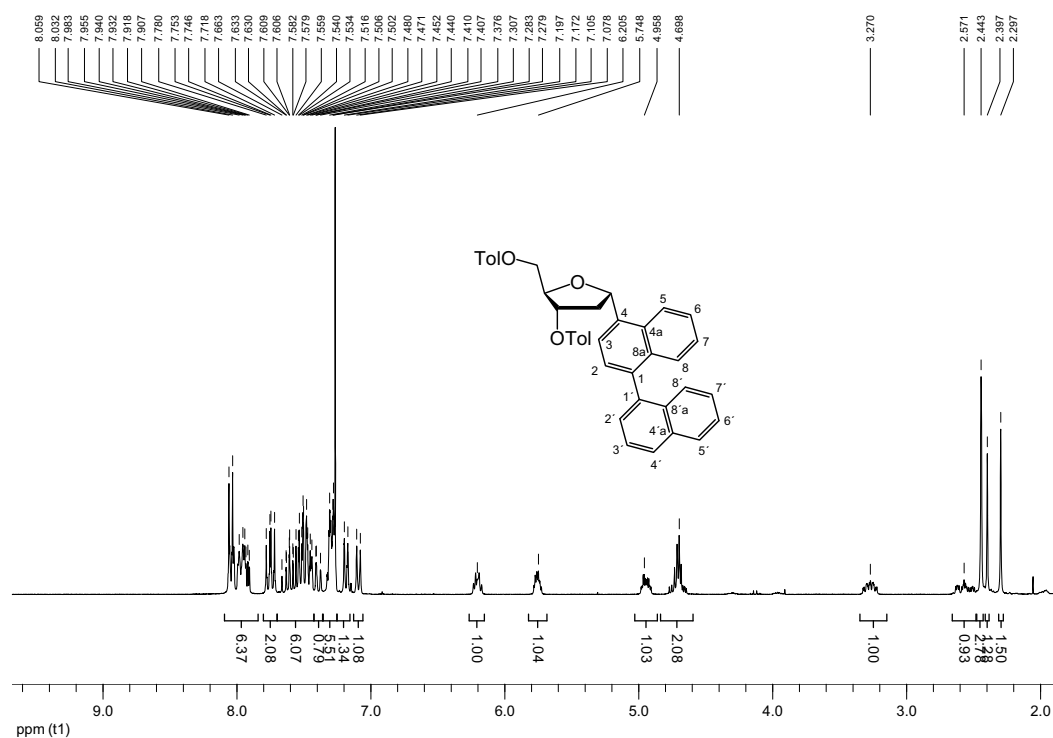


$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz; CDCl_3)

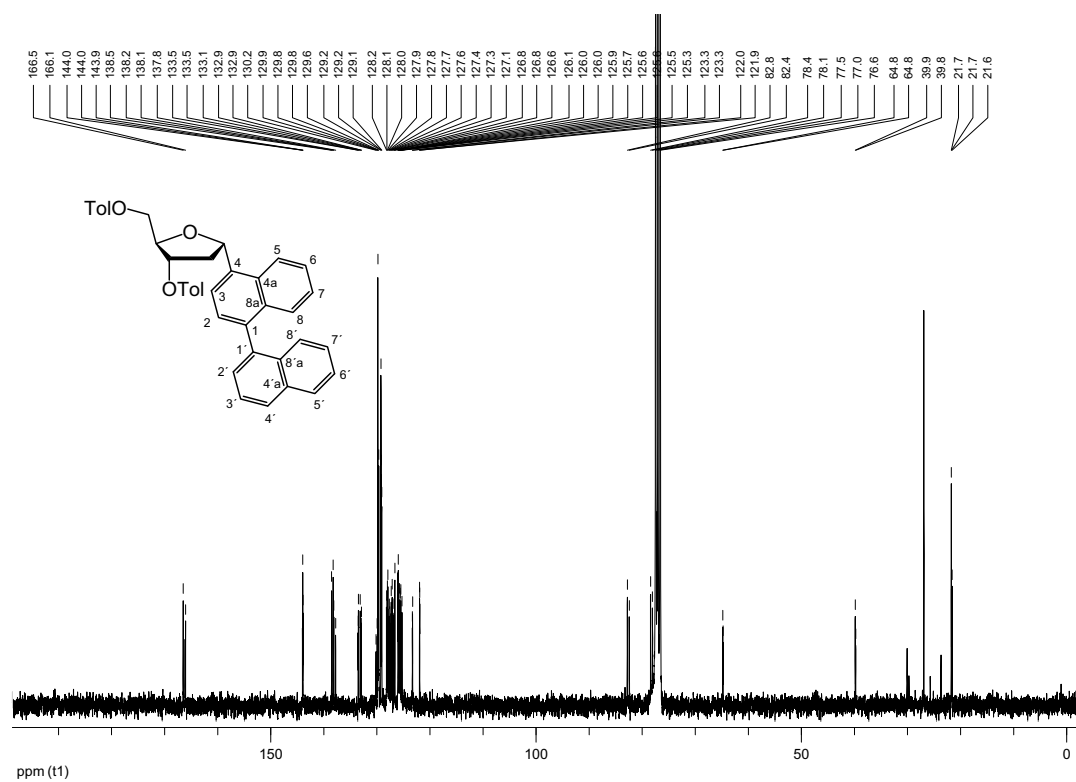


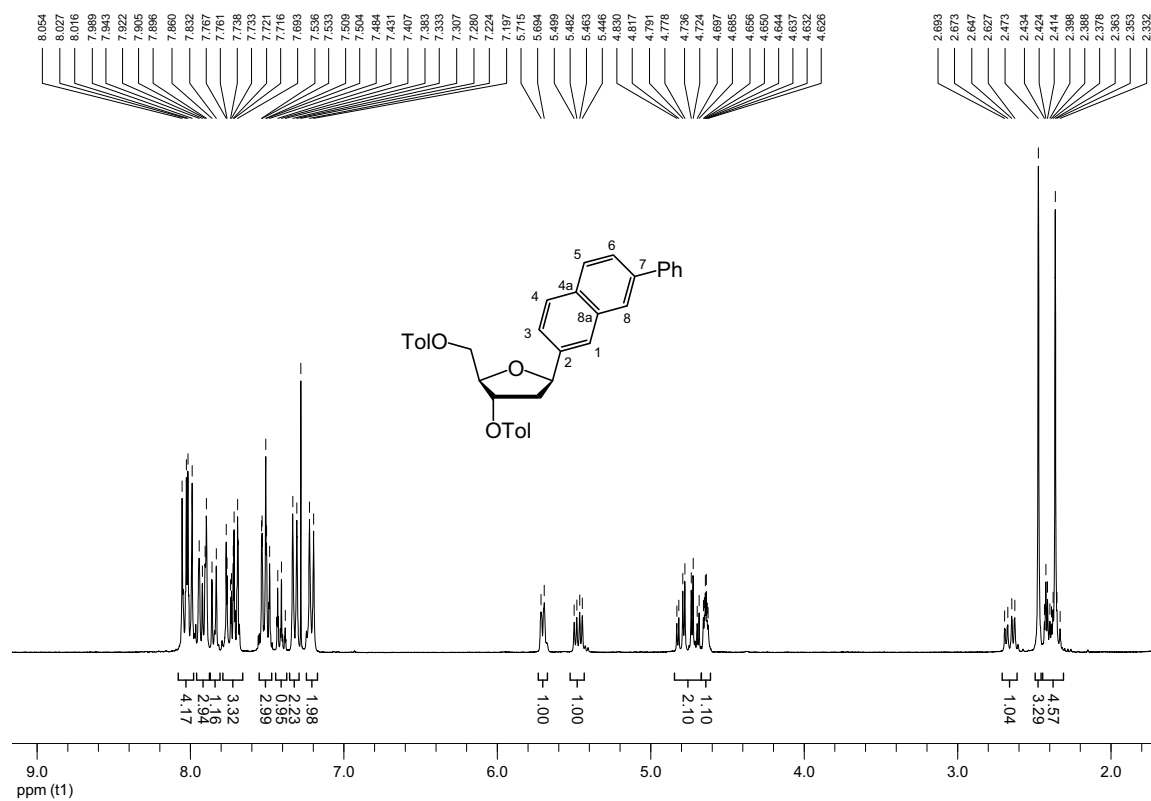
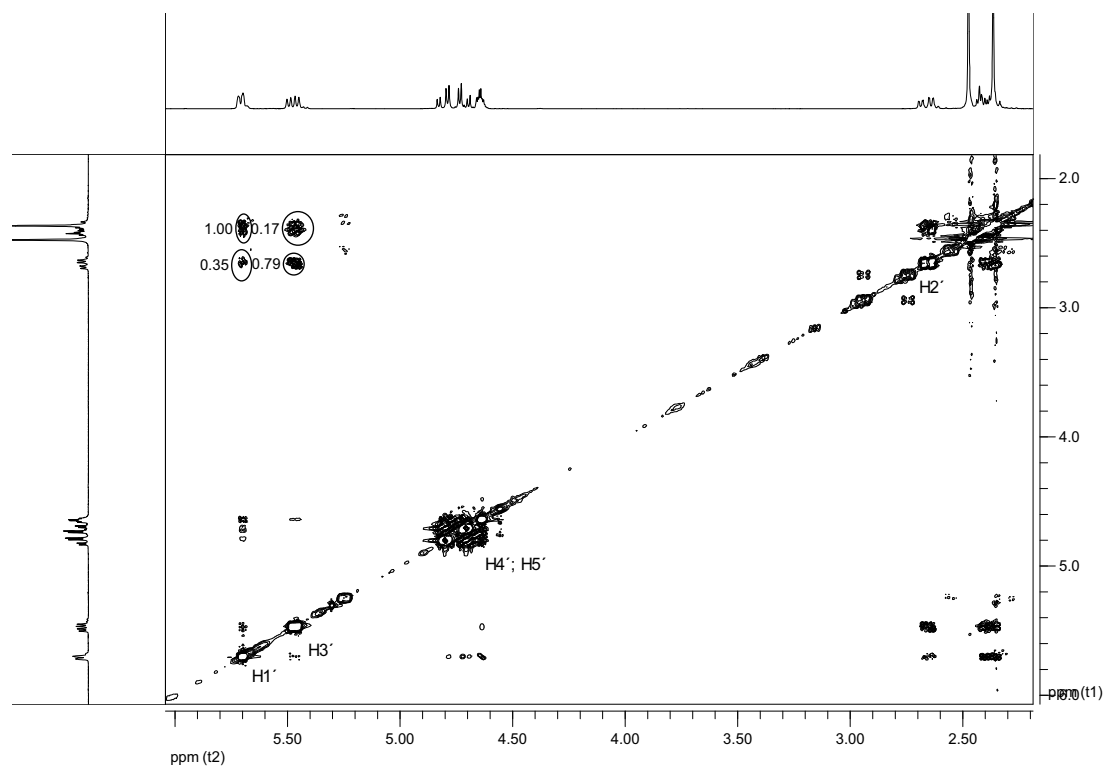
α -1'',2''-Dideoxy-3'',5''-di-*O*-toluoyl-1''-(*R,S*-[1,1']binaphthalen-4-yl)ribofuranose (134na)

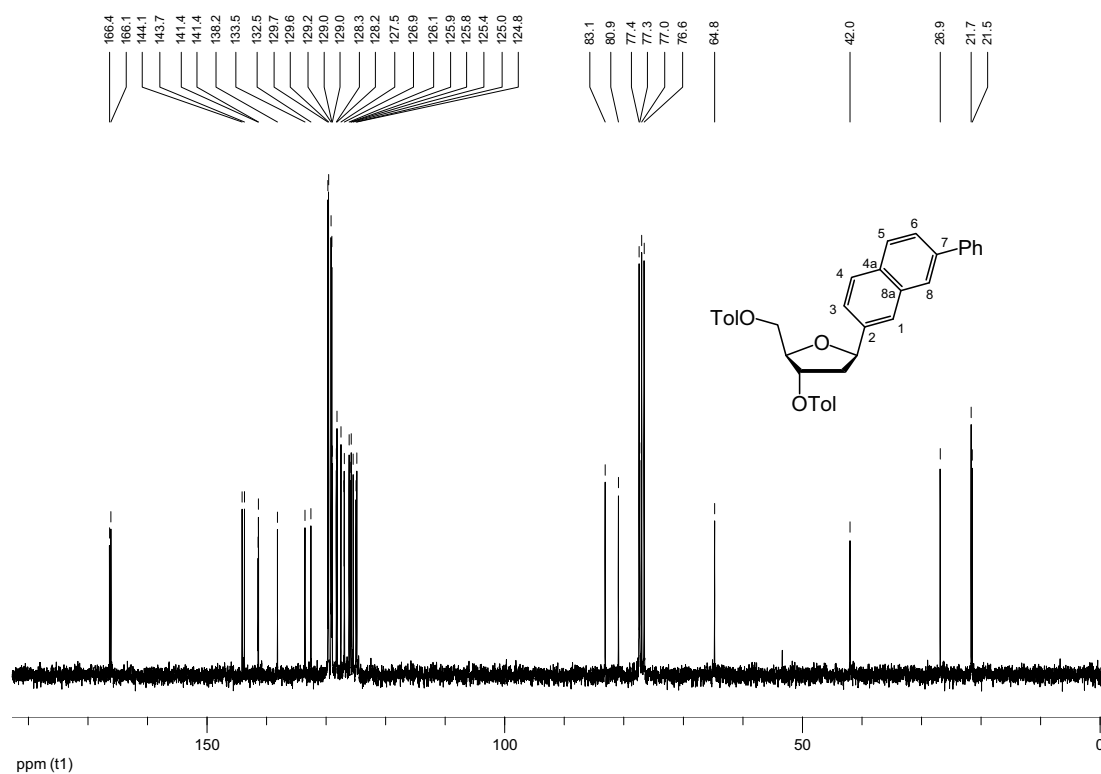
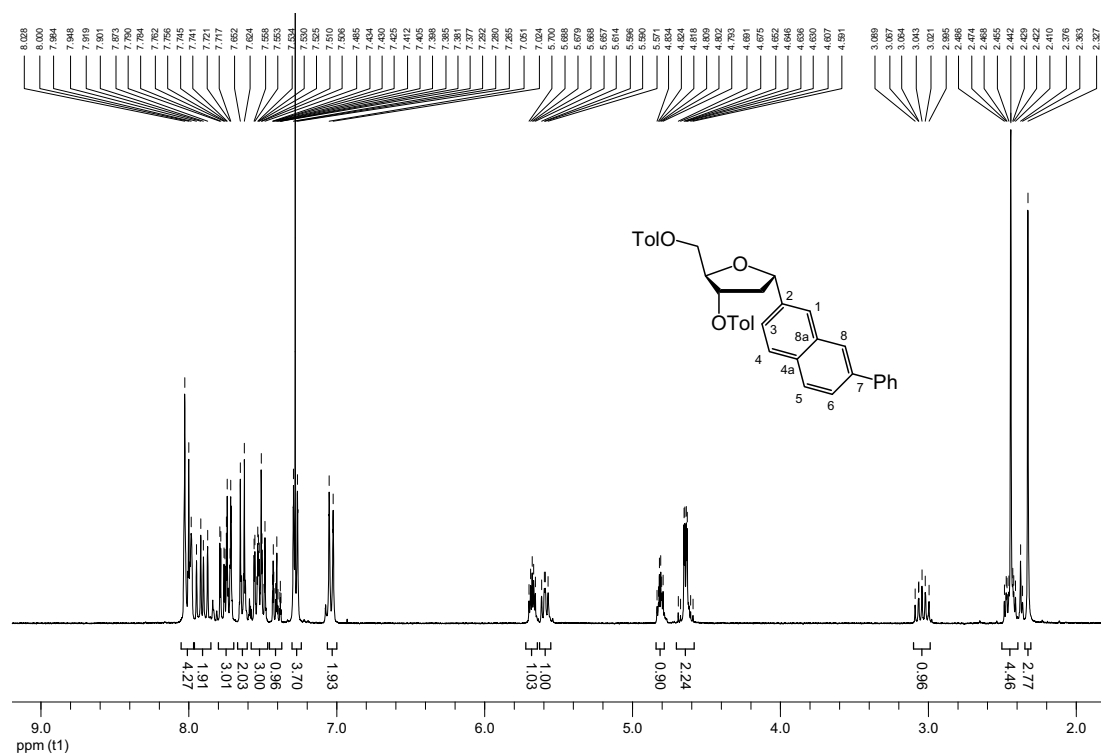
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; CDCl_3)

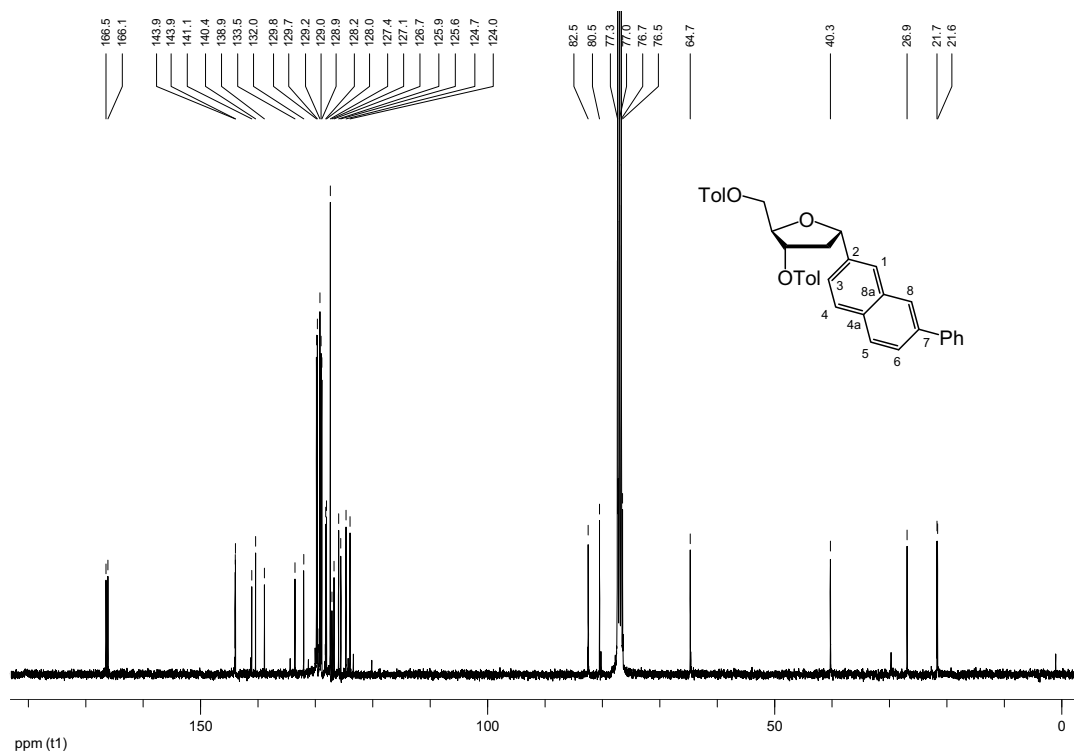
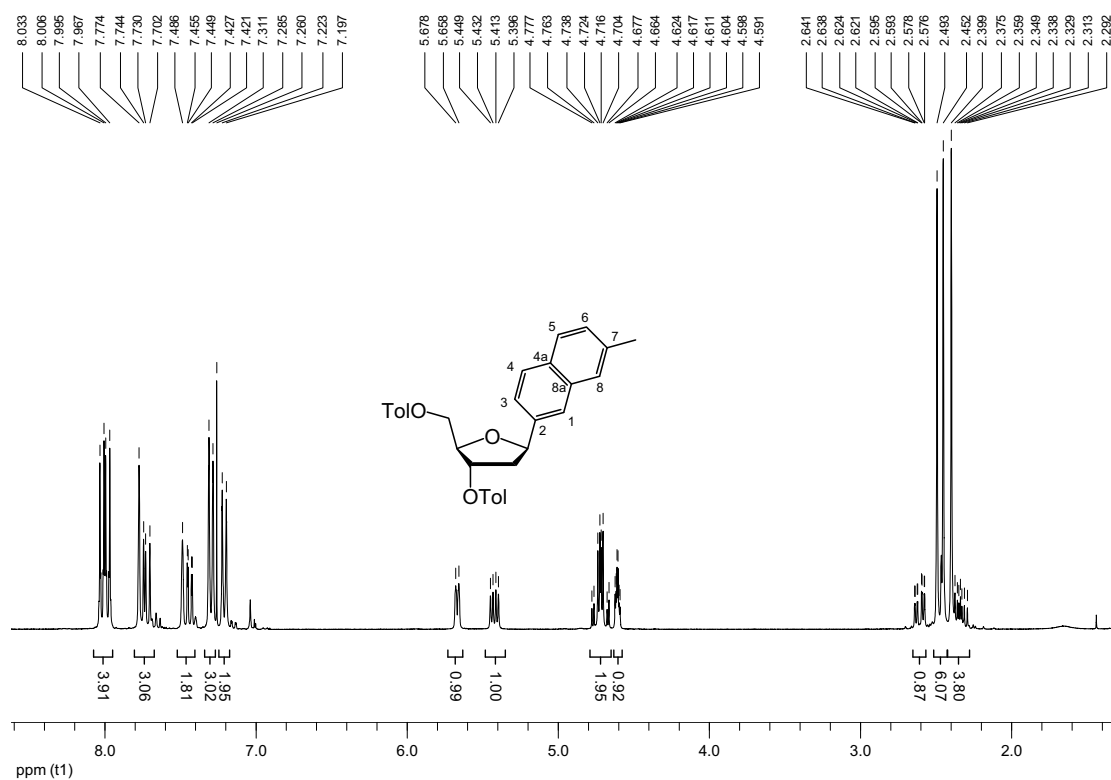


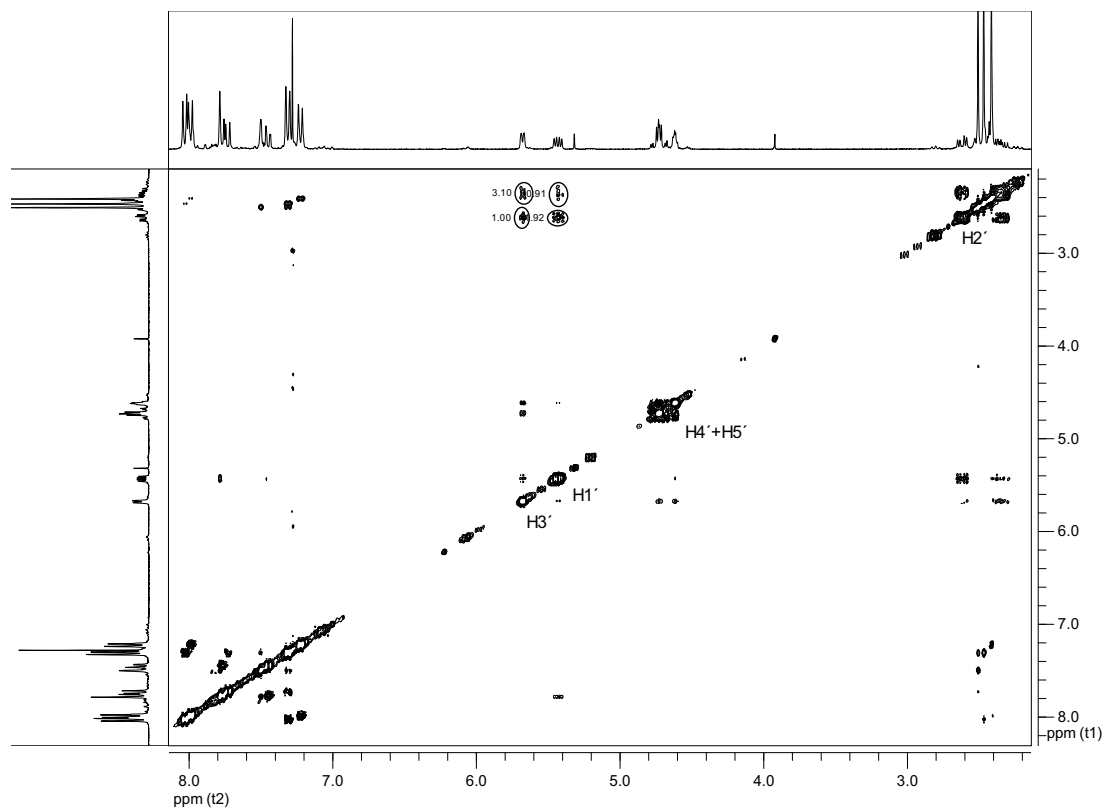
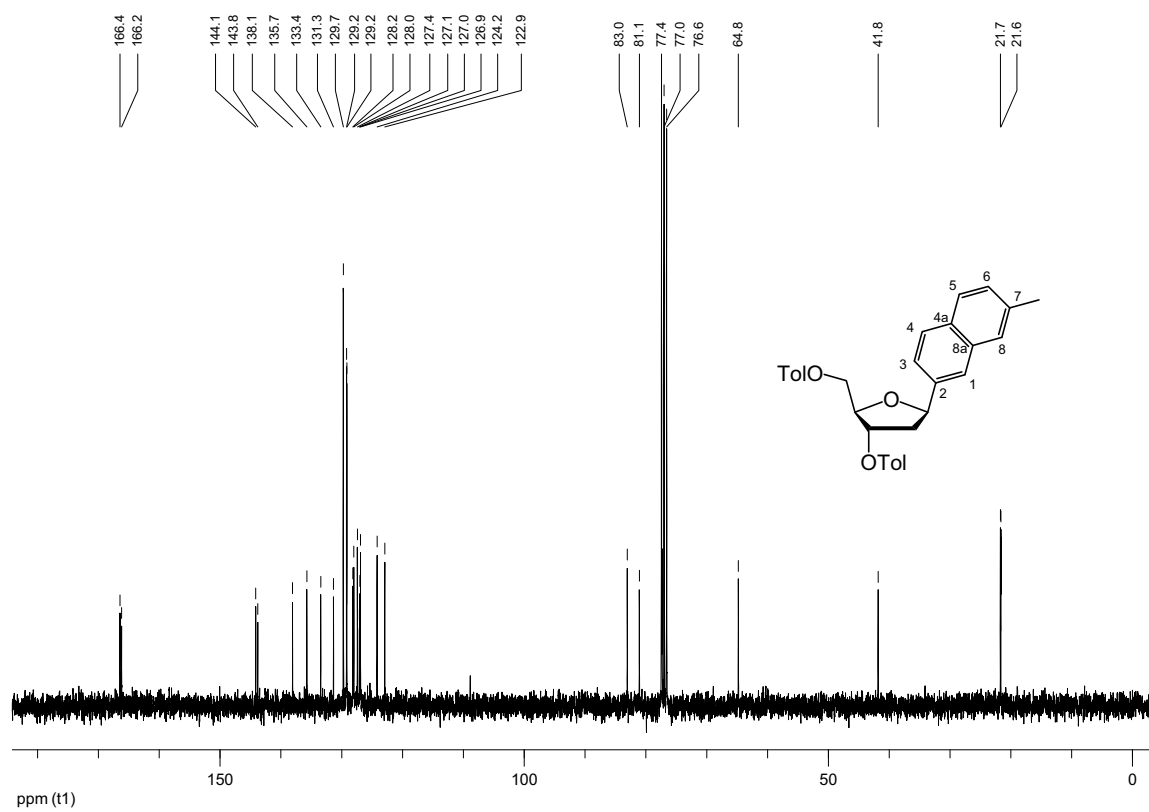
$^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz; CDCl_3)

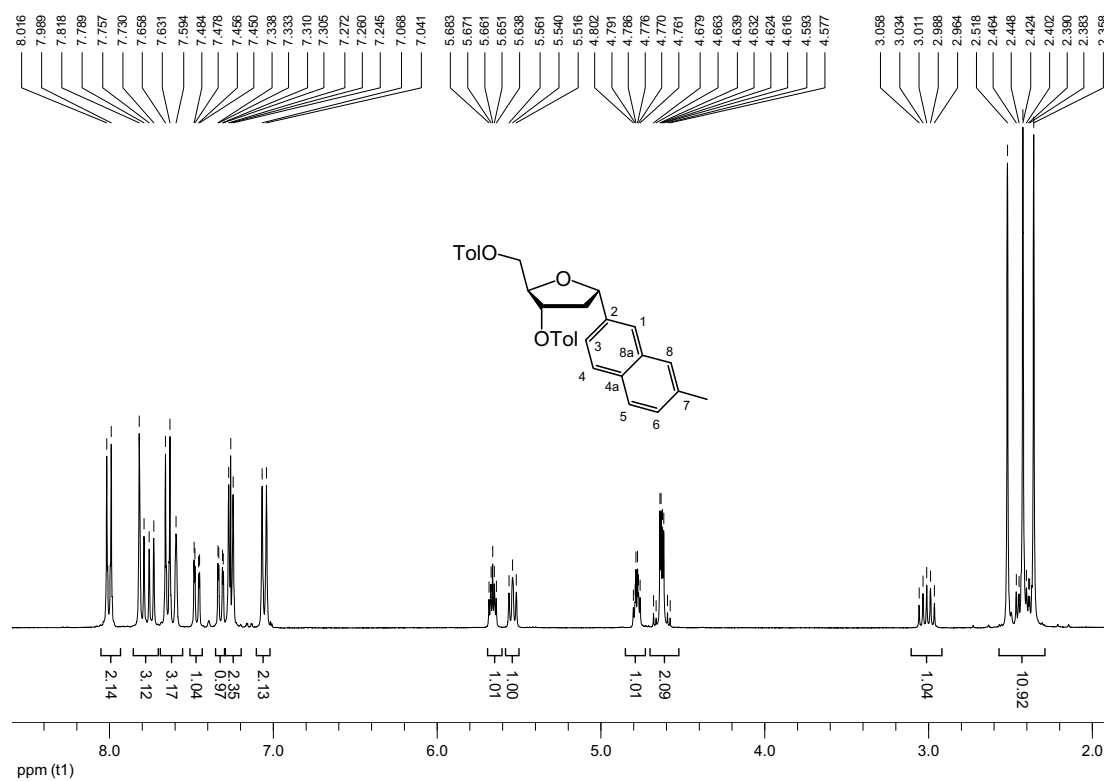
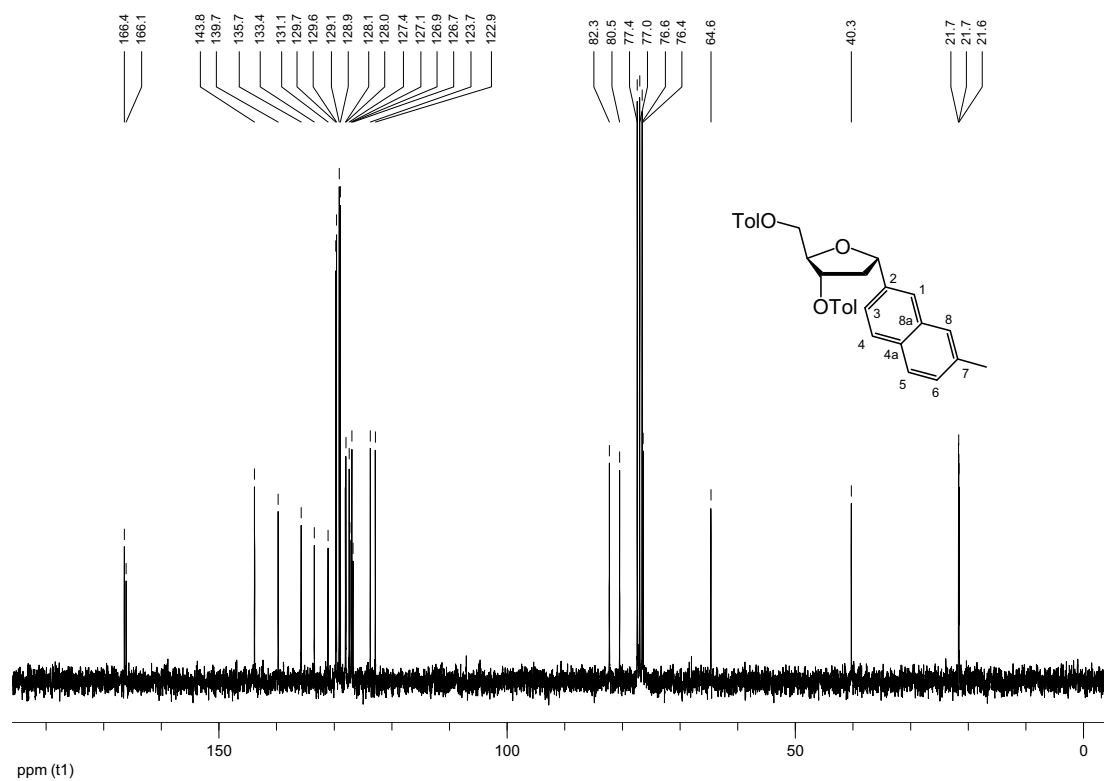


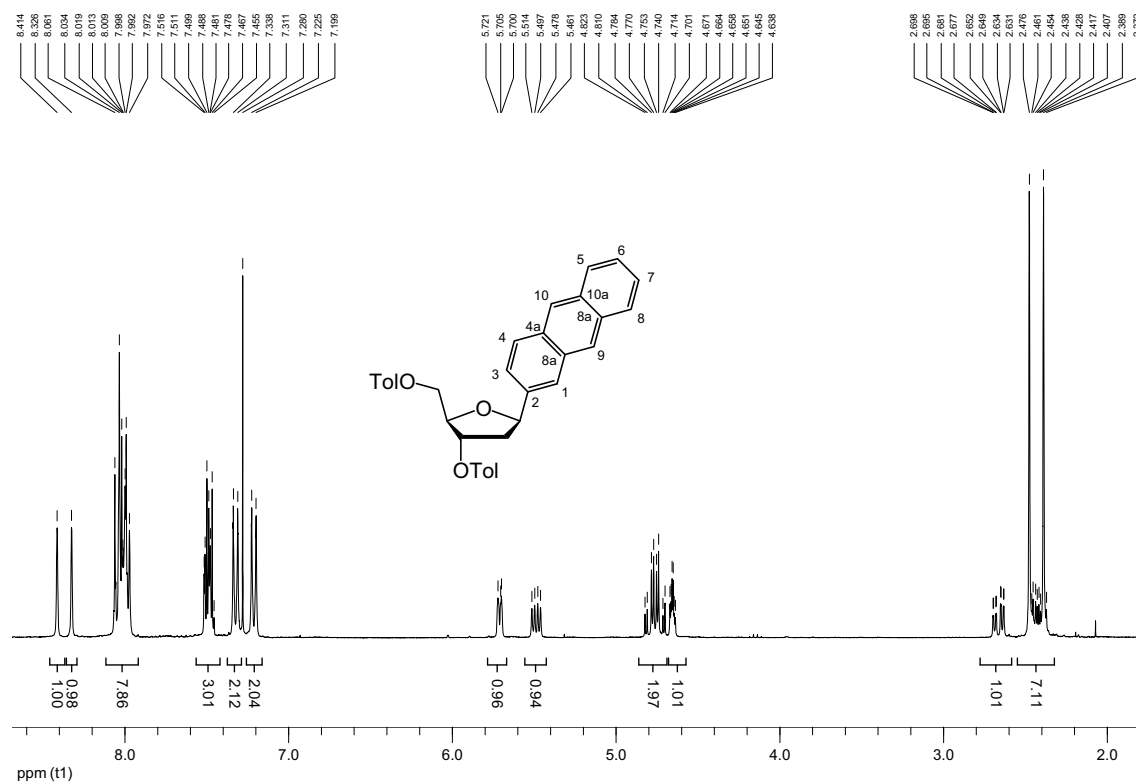
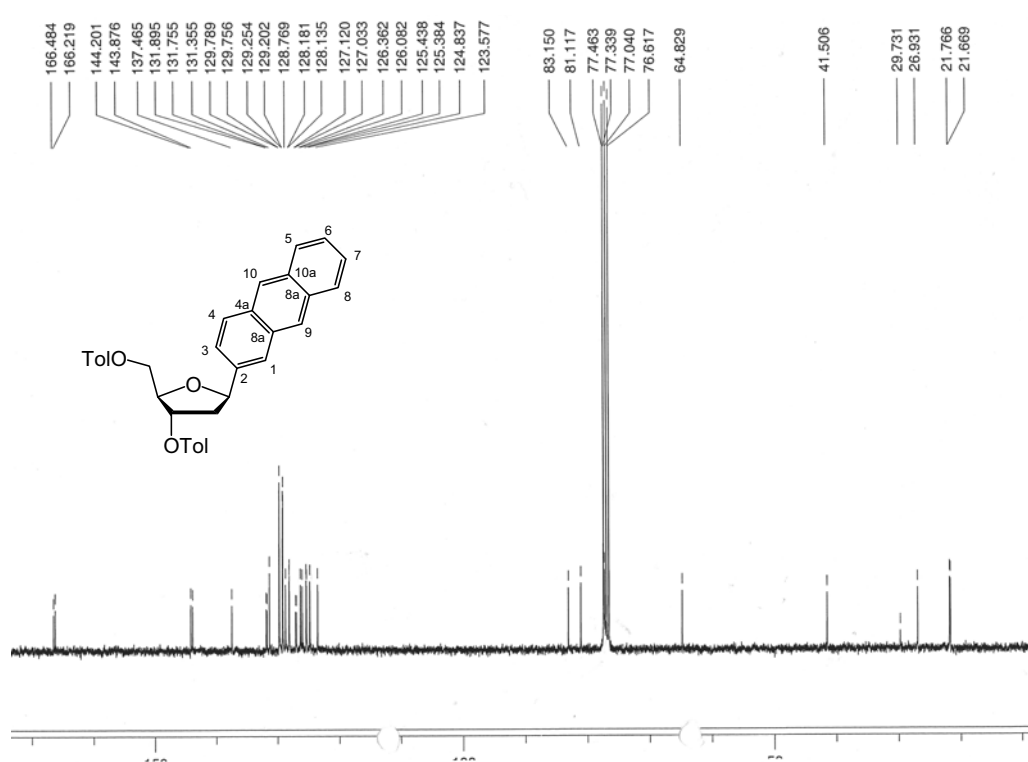
β -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(2-(7-phenyl)naphthyl)ribofuranose (134o β)¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)NOESY (300 MHz; CDCl₃)

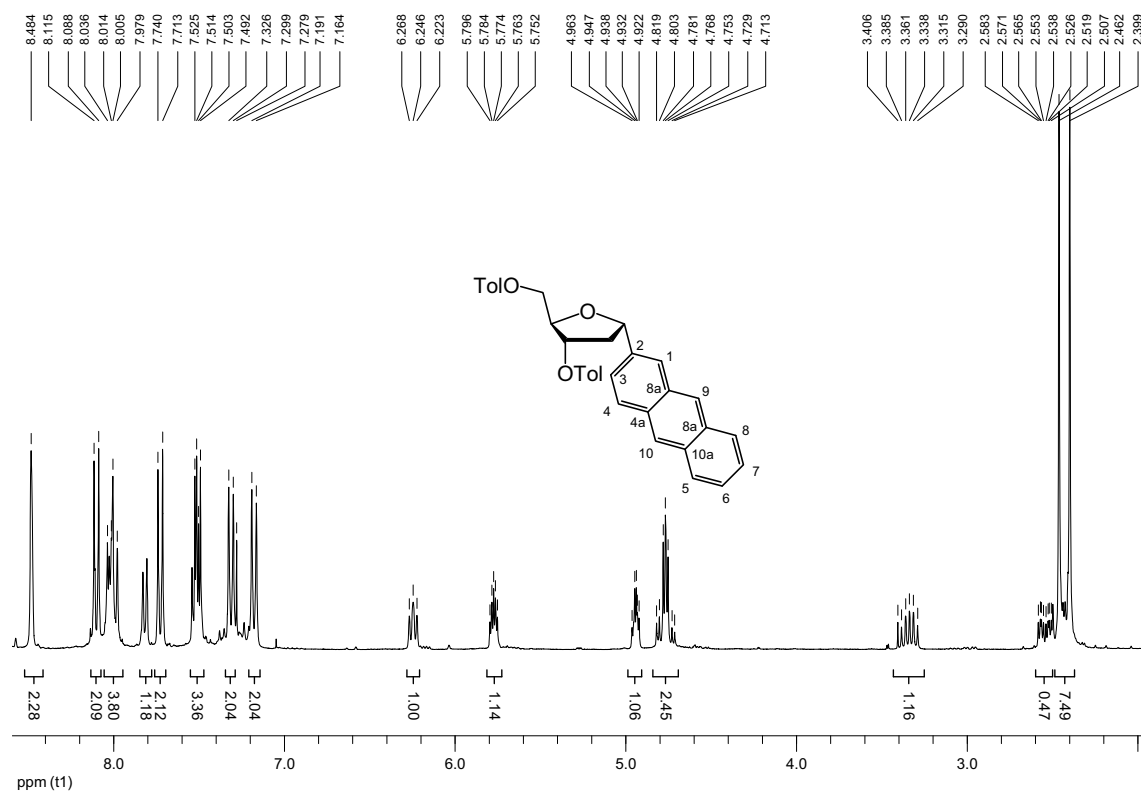
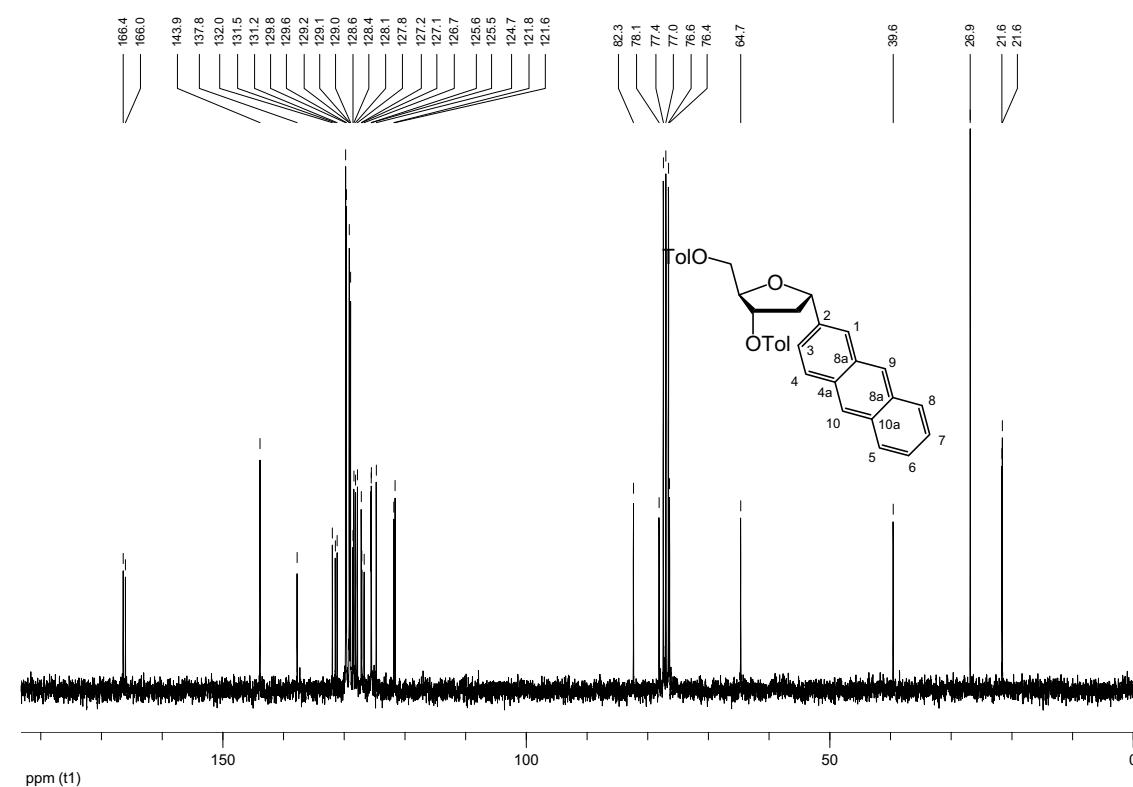
^{13}C -NMR (75.5 MHz; CDCl_3) α -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(2-(7-phenyl)naphthyl)ribofuranose (134oα) ^1H -NMR (300 MHz; CDCl_3)

^{13}C -NMR (100.6 MHz; CDCl_3) β -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(2-(7-methyl)naphthyl)ribofuranose (134p β) ^1H -NMR (300 MHz; CDCl_3)

NOESY (300 MHz; CDCl₃)¹³C-NMR (75.5 MHz; CDCl₃)

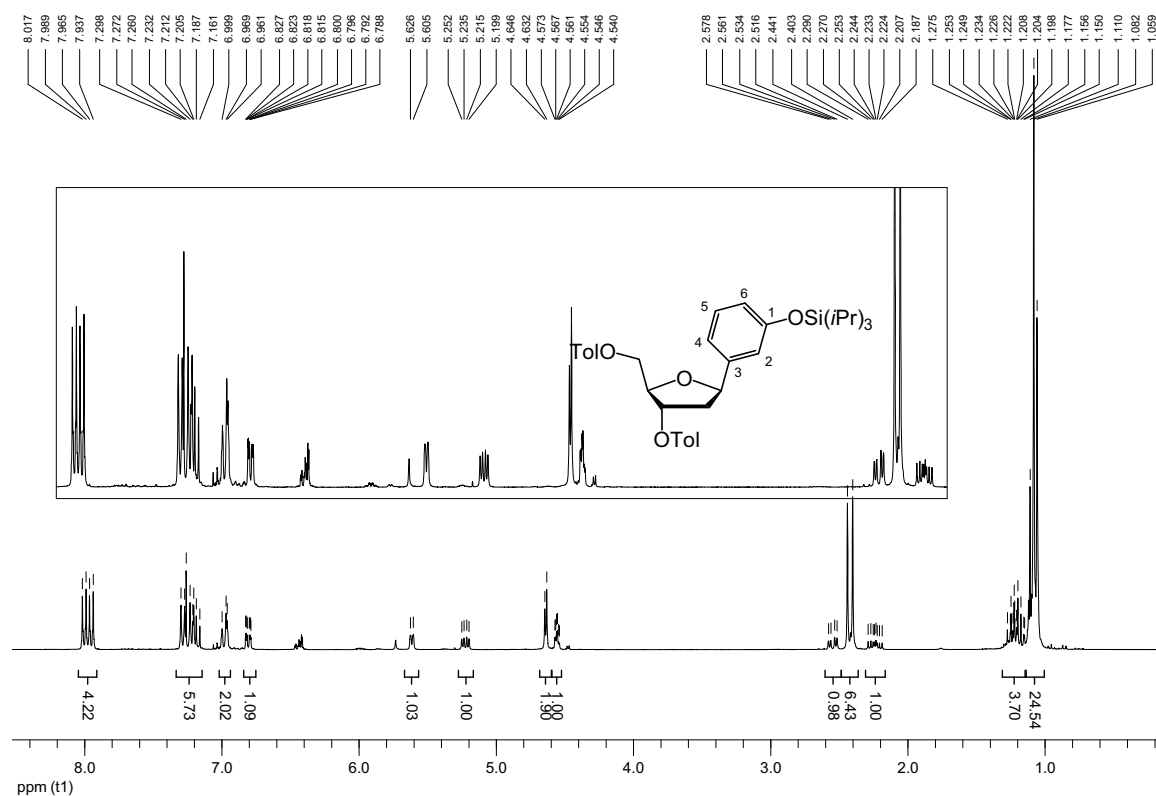
α -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(2-(7-methyl)naphthyl)ribofuranose (134p α)¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)¹³C-NMR (75.5 MHz; CDCl₃)

β -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(2-anthracenyl)ribofuranose (134q β)¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)¹³C-NMR (75.5 MHz; CDCl₃)

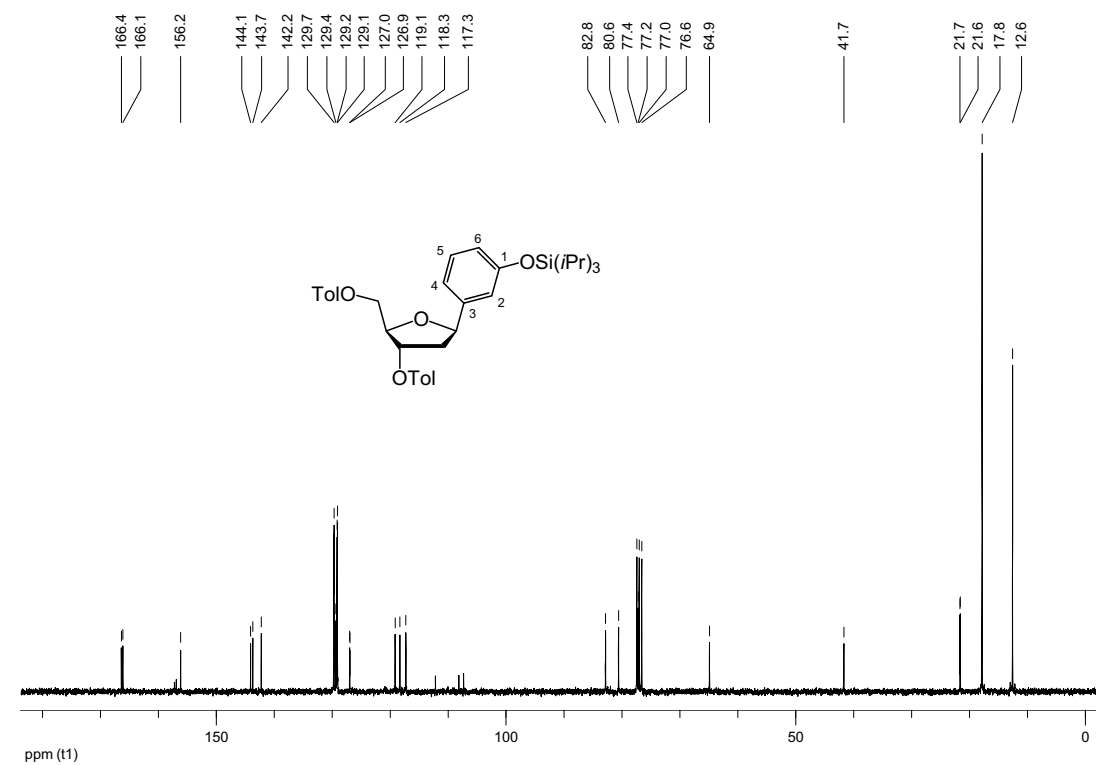
α -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(2-anthracenyl)ribofuranose (134qa)¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)¹³C-NMR (75.5 MHz; CDCl₃)

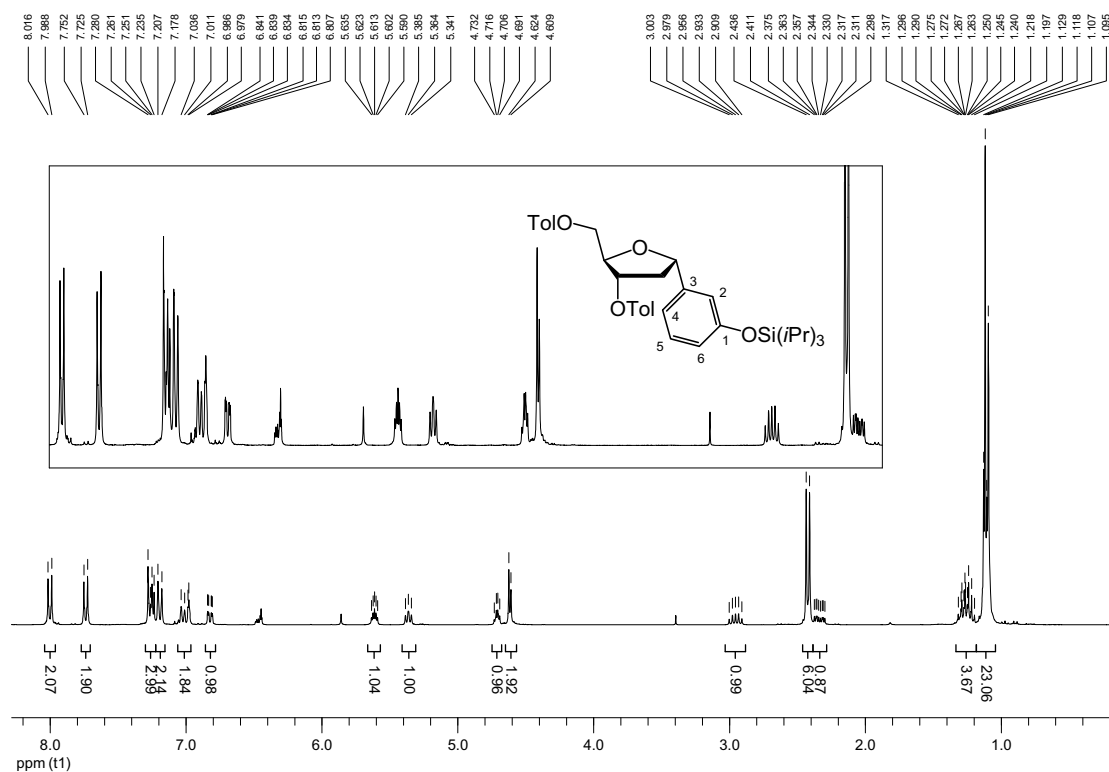
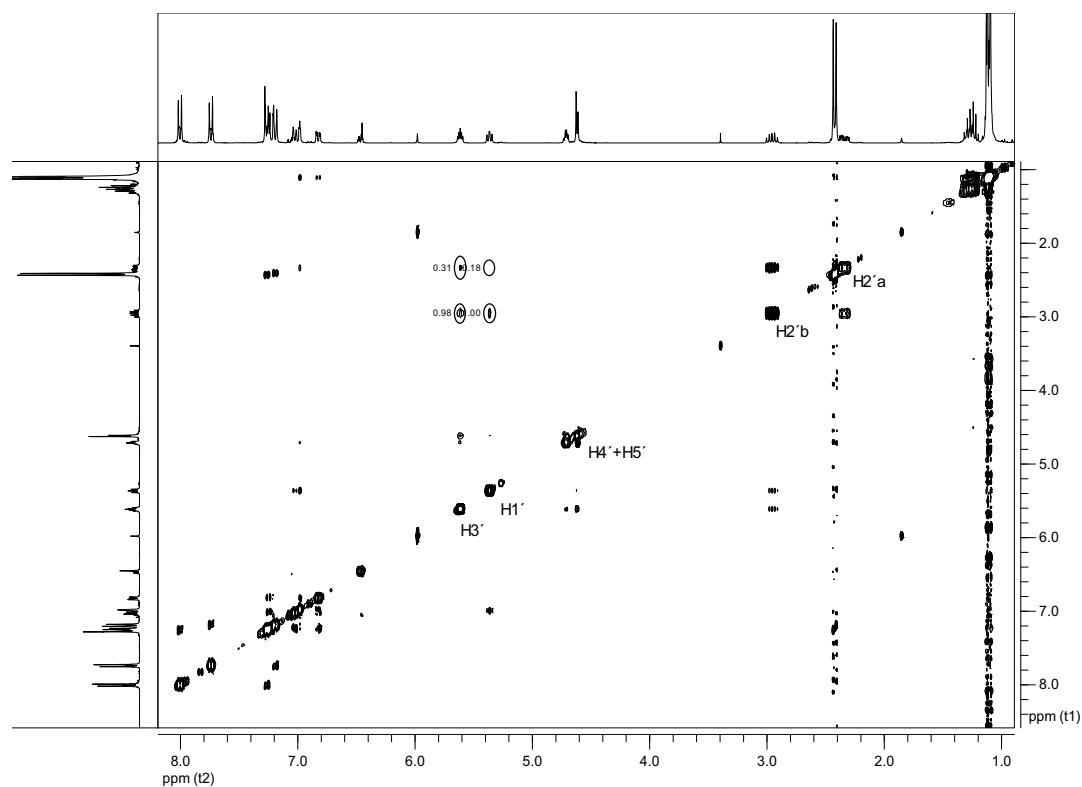
β -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-triisopropylsilyloxyphenyl)ribofuranose (134r β)

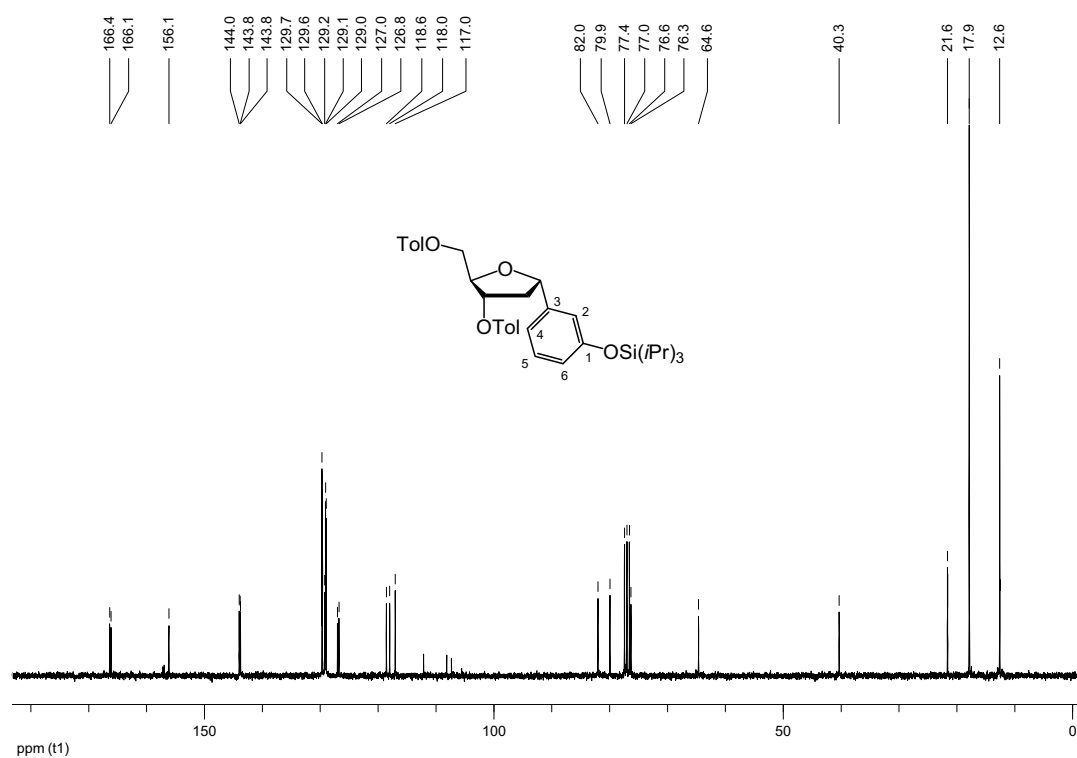
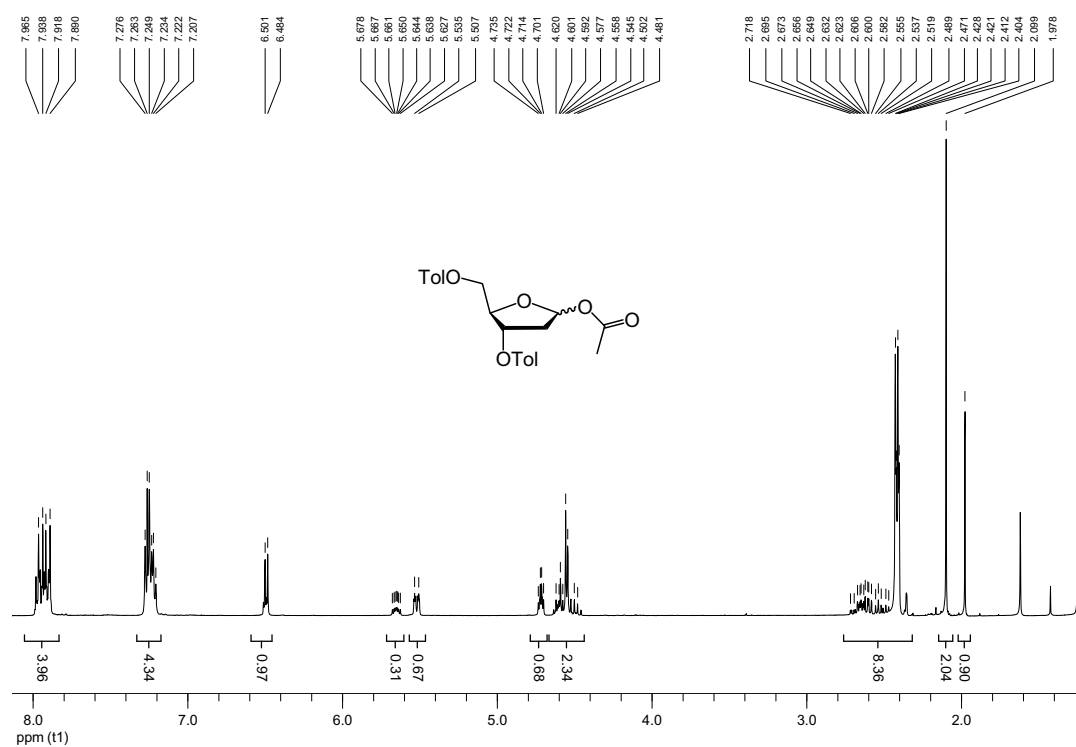
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; CDCl_3)

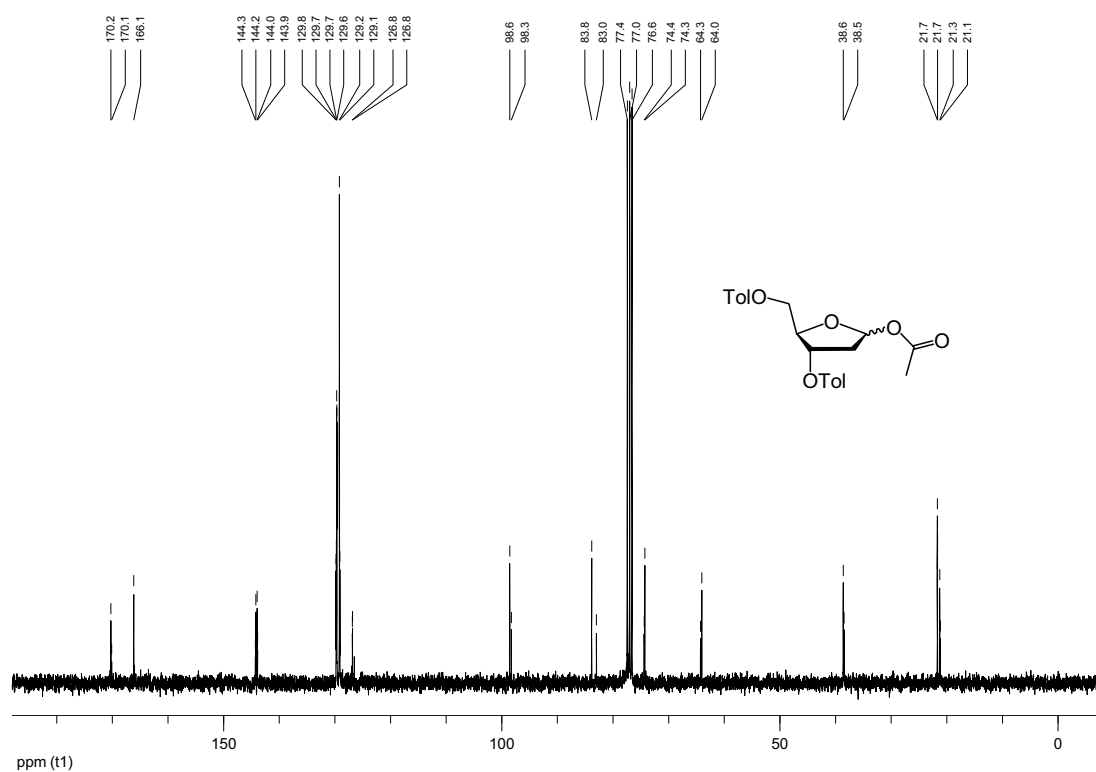
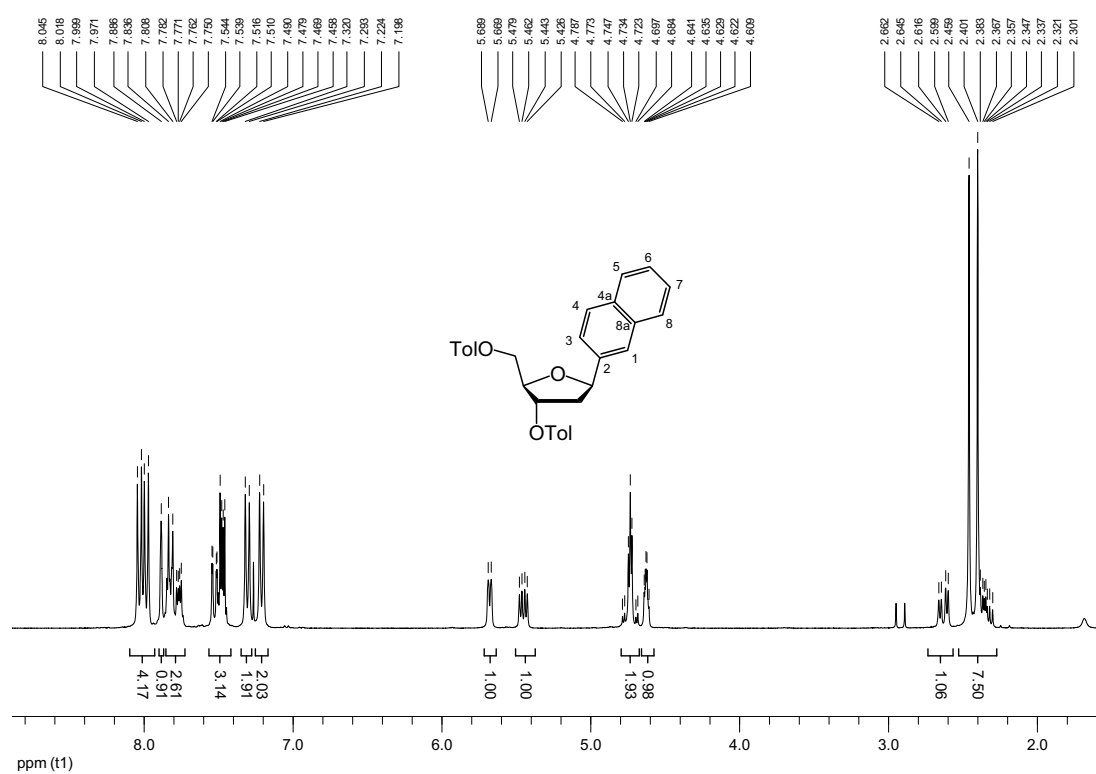


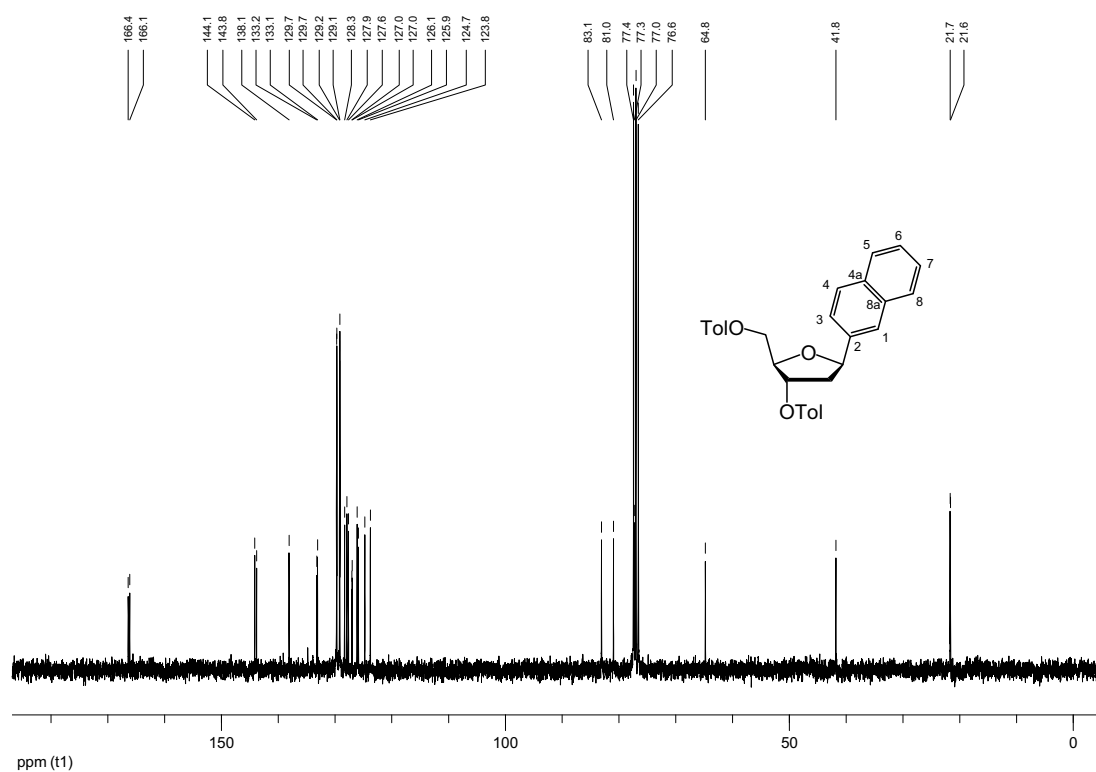
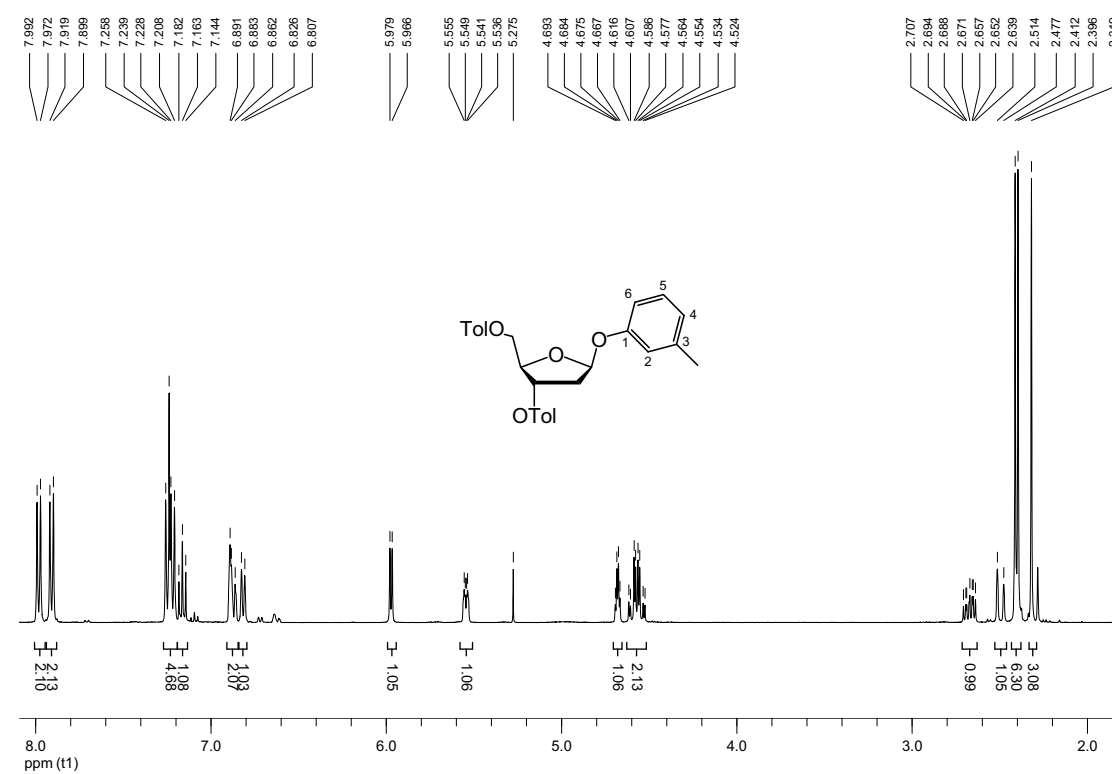
$^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz; CDCl_3)

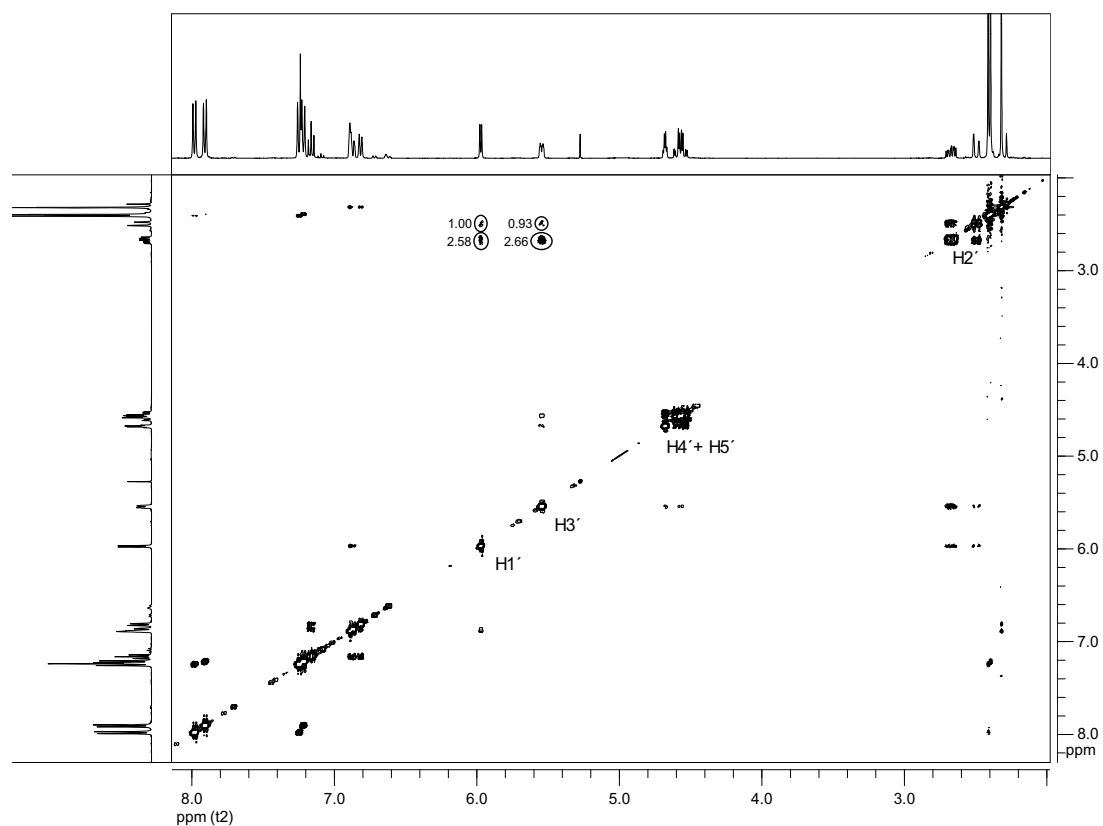
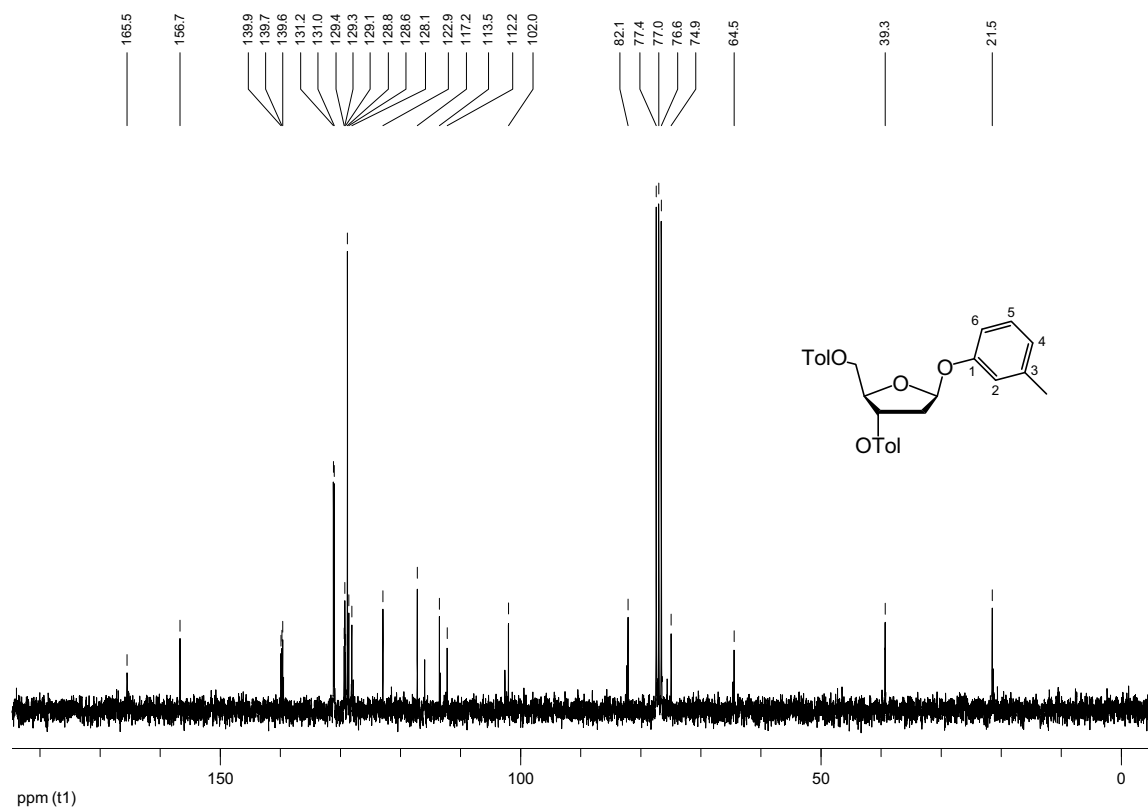


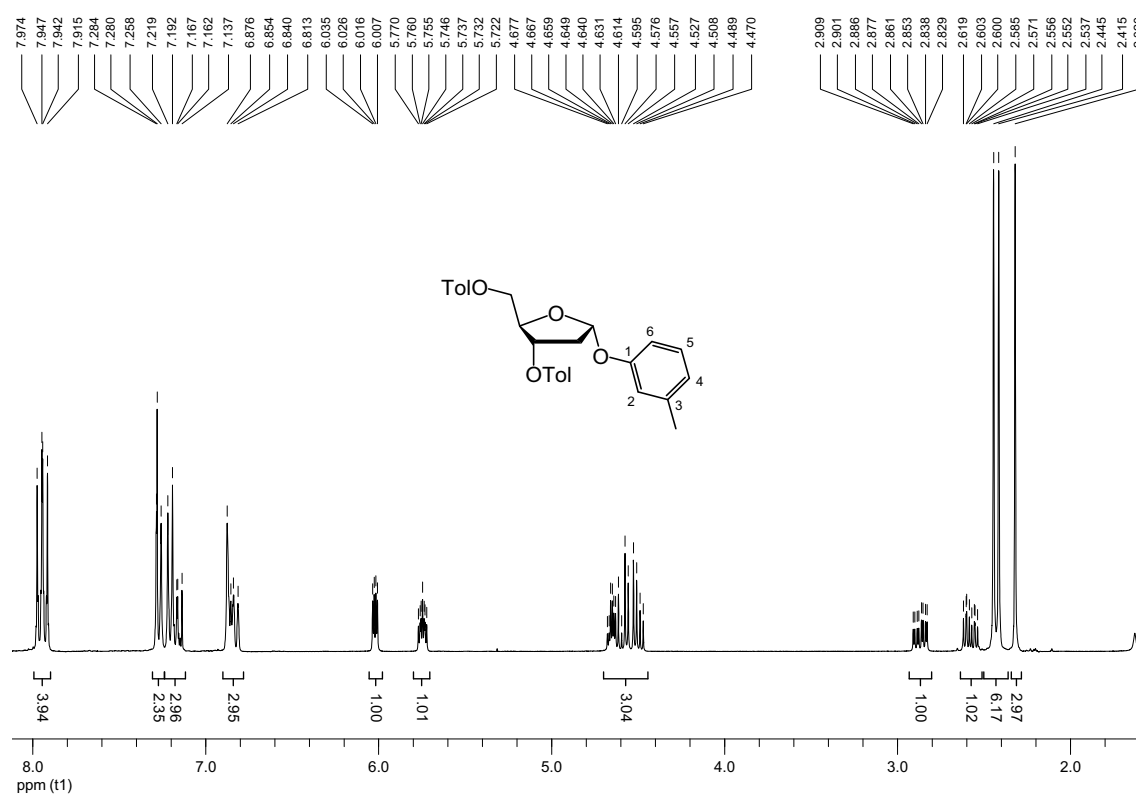
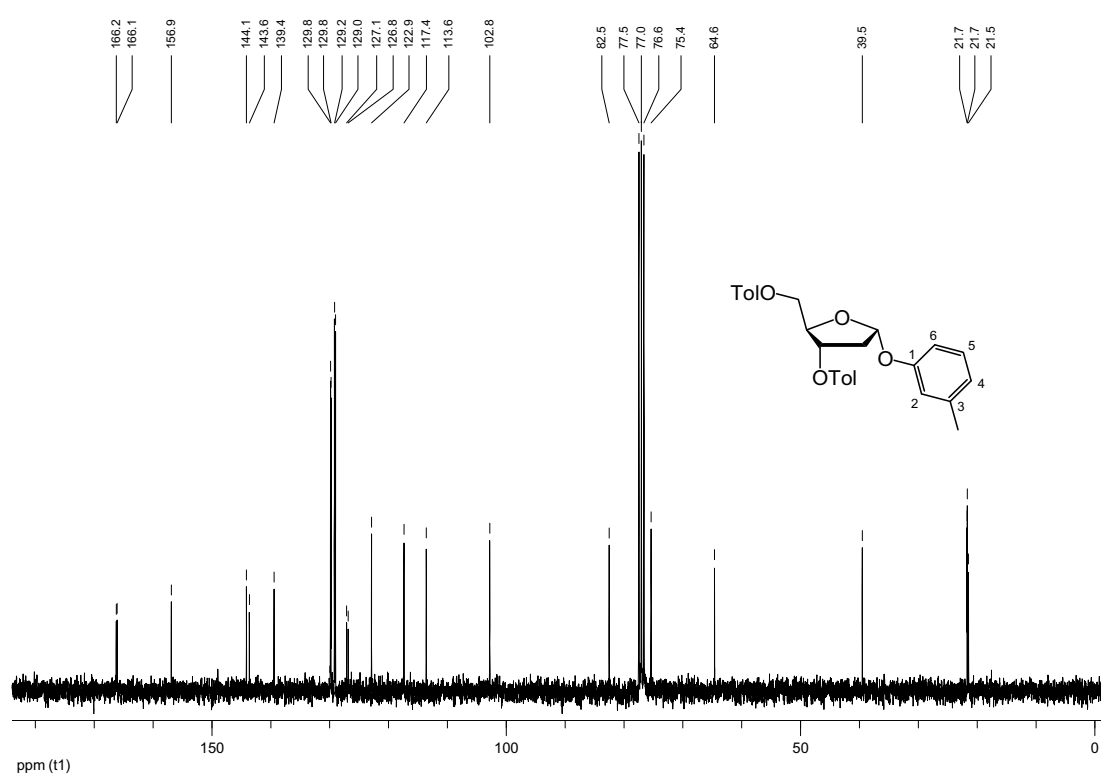
α -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-triisopropylsilyloxyphenyl)ribofuranose (134a)¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)NOESY (300 MHz; CDCl₃)

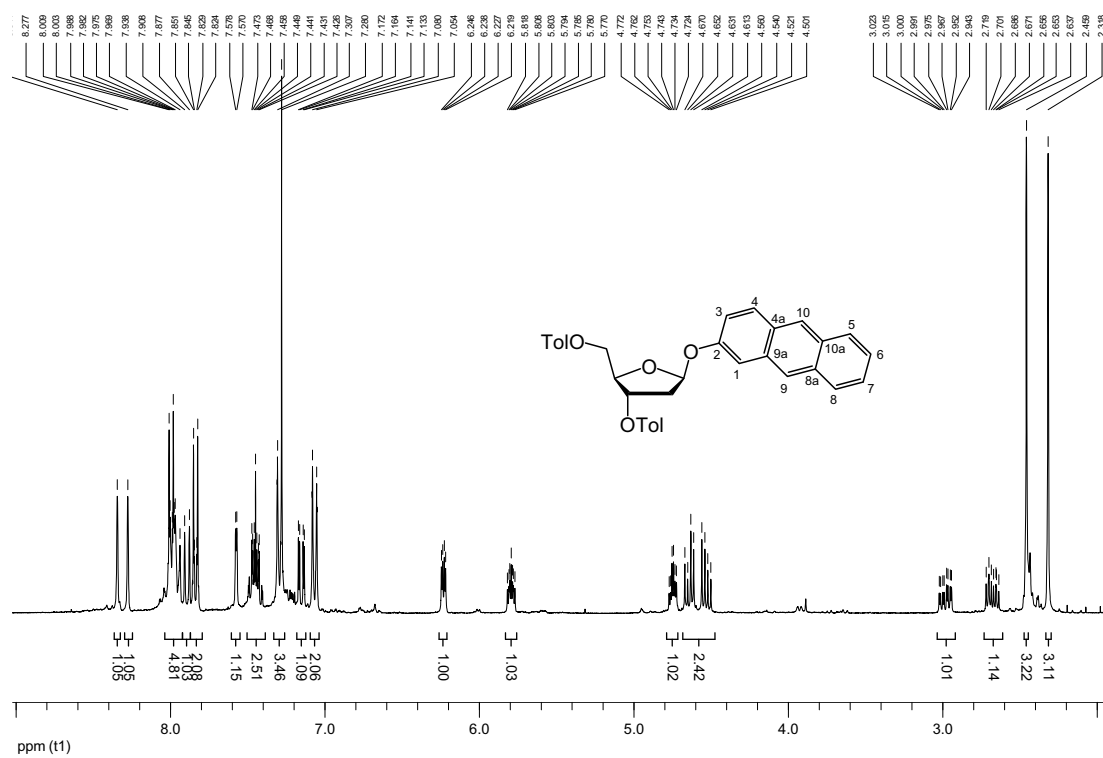
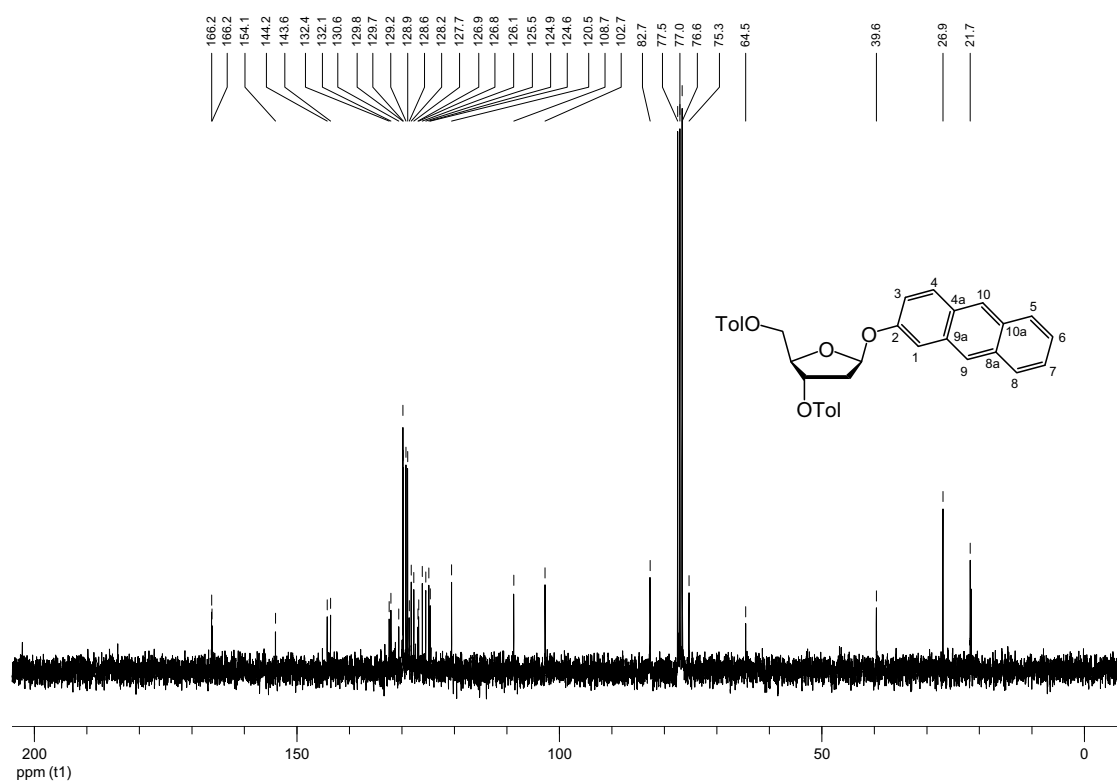
^{13}C -NMR (75.5 MHz; CDCl_3) α,β -2-Desoxy-3,5-di-*O*-toluoyl-1-*O*-acetyl-ribofuranose (145) ^1H -NMR (300 MHz; CDCl_3)

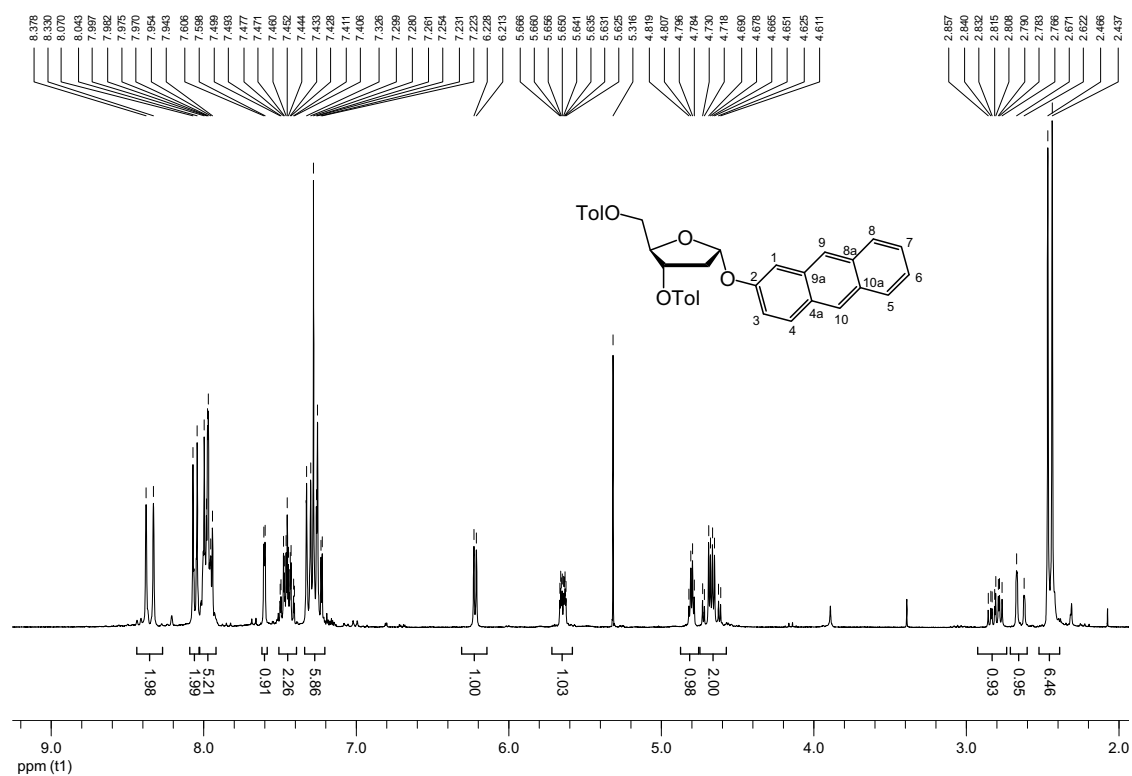
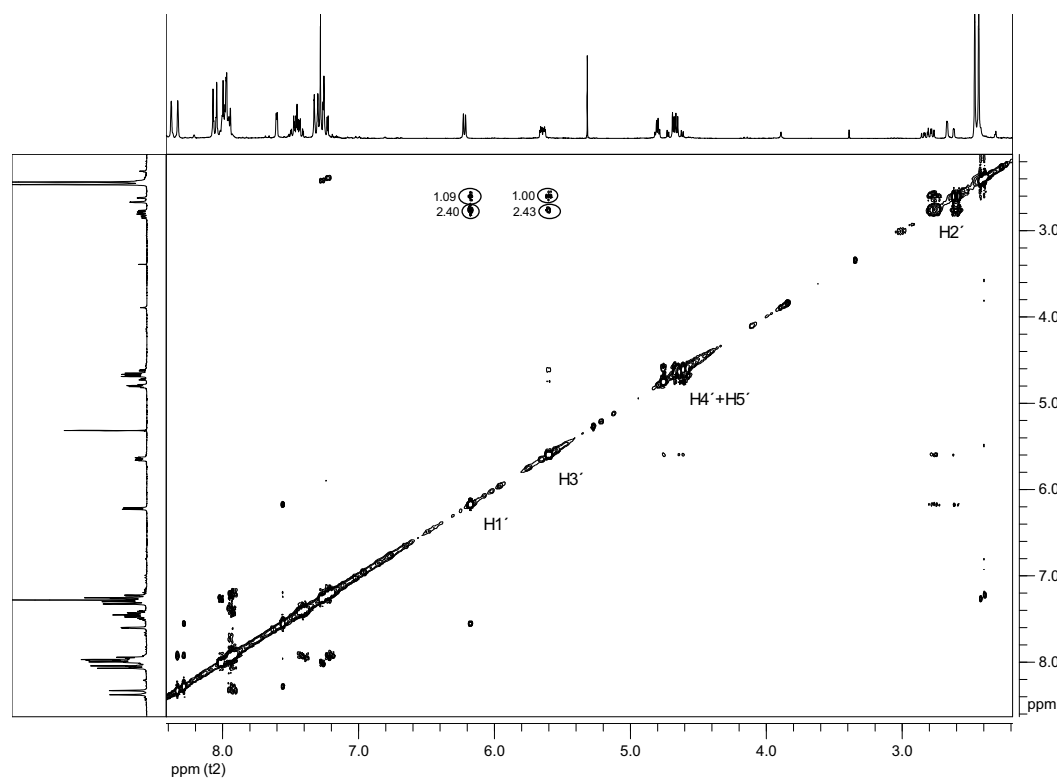
^{13}C -NMR (75.5 MHz; CDCl_3) β -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-O-toluo-1'-(2-naphthyl)ribofuranose (134s β) ^1H -NMR (300 MHz; CDCl_3)

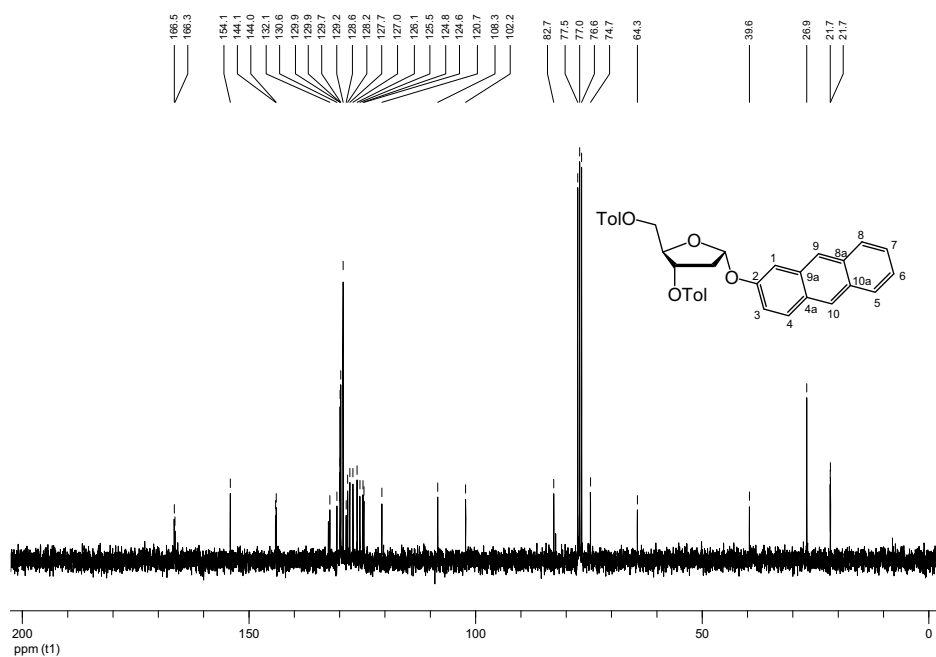
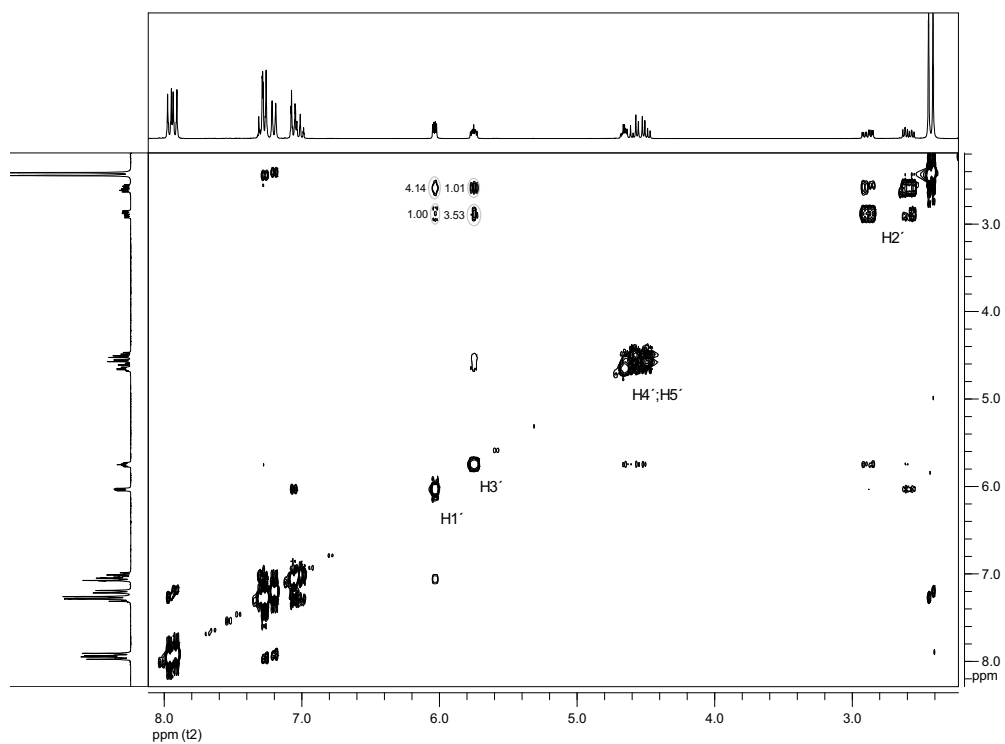
^{13}C -NMR (75.5 MHz; CDCl_3) β -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-tolyloxy)ribofuranose (142a β) ^1H -NMR (300 MHz; CDCl_3)

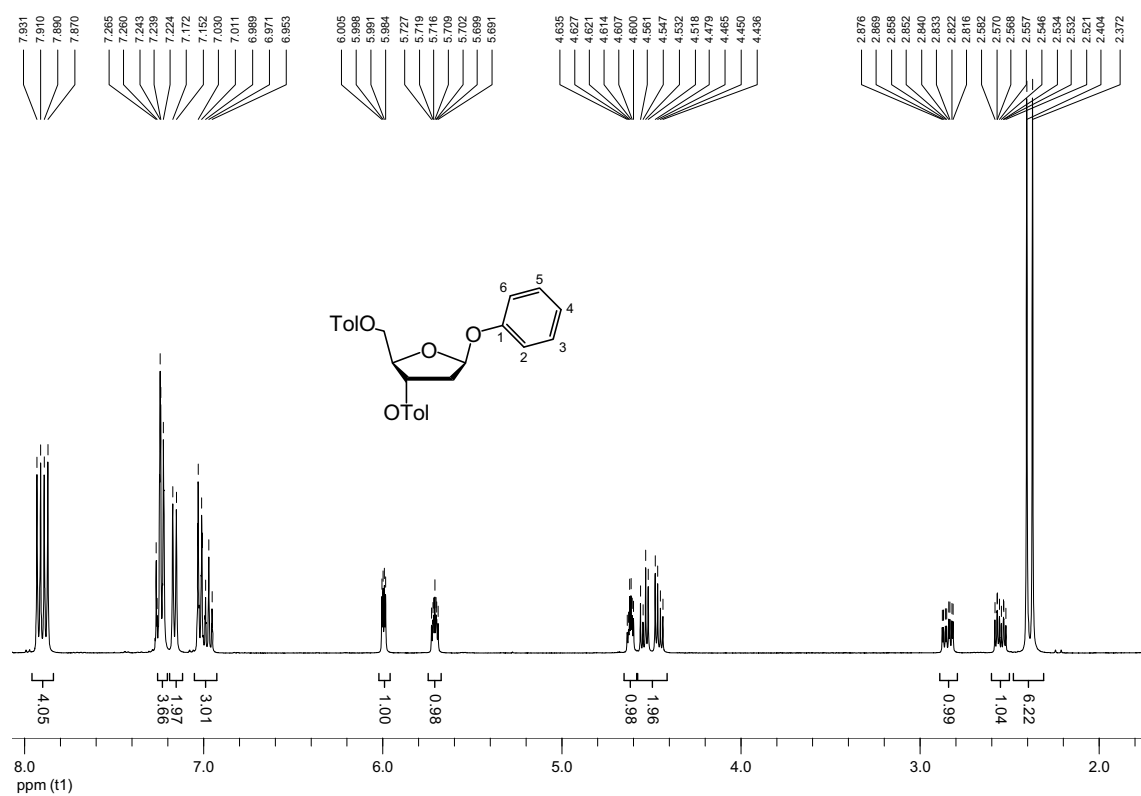
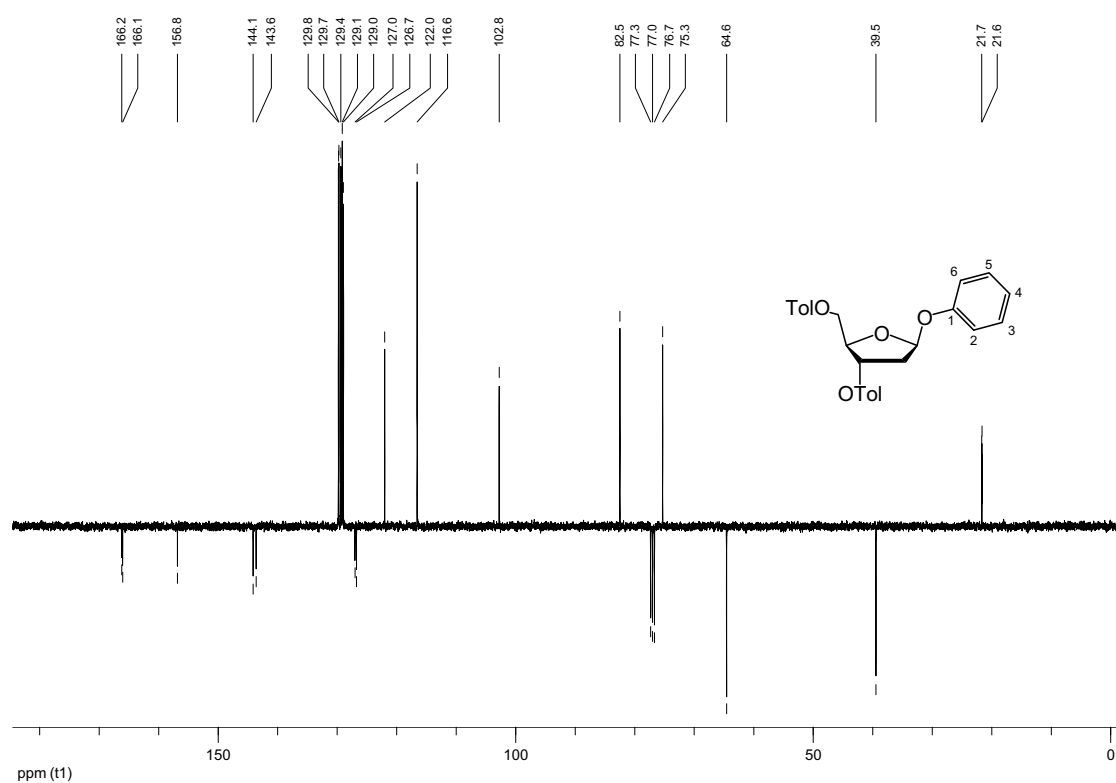
NOESY (400 MHz; CDCl₃)¹³C-NMR (75.5 MHz; CDCl₃)

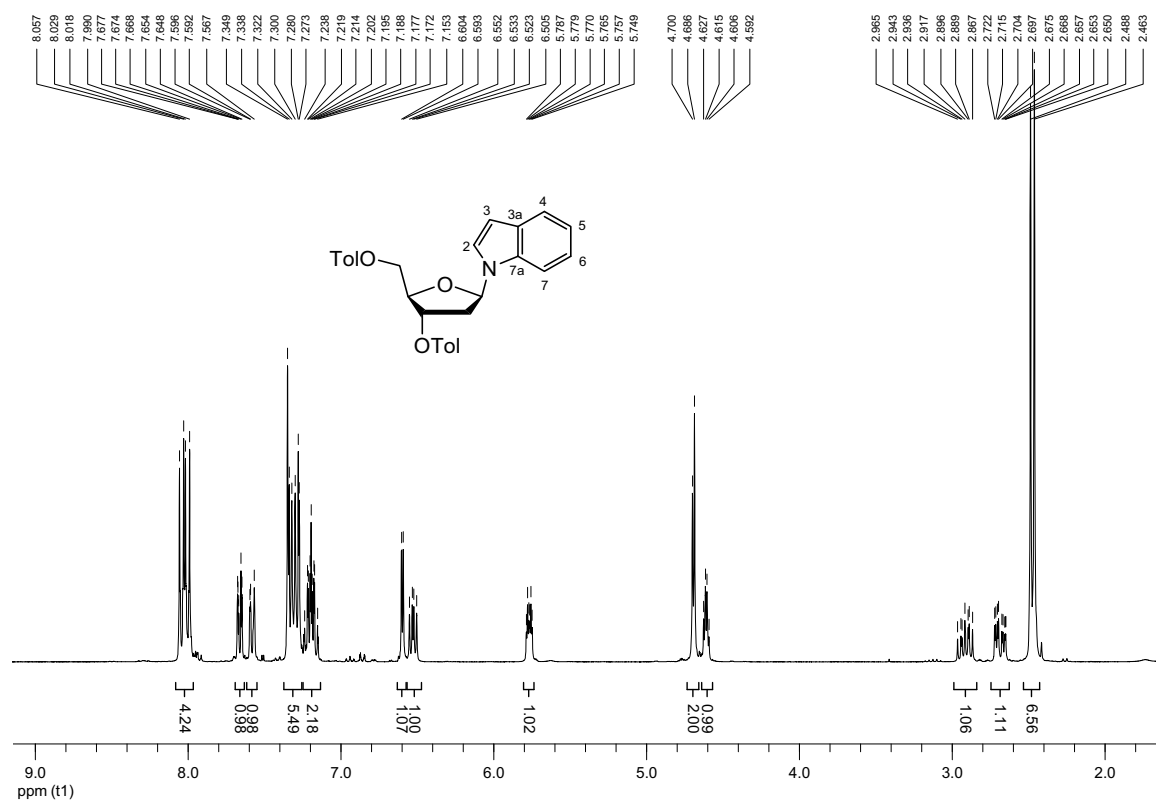
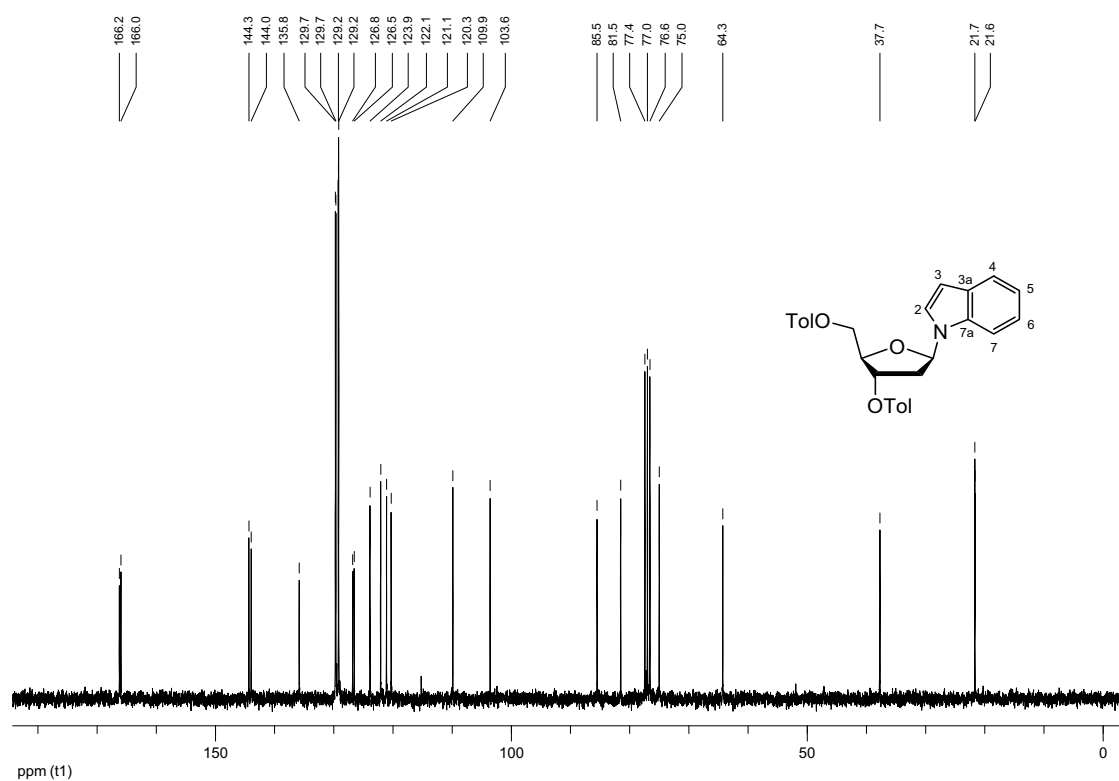
α -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(3-tolyloxy)ribofuranose (142a α)¹H-NMR (400 MHz; CDCl₃)¹³C-NMR (75.5 MHz; CDCl₃)

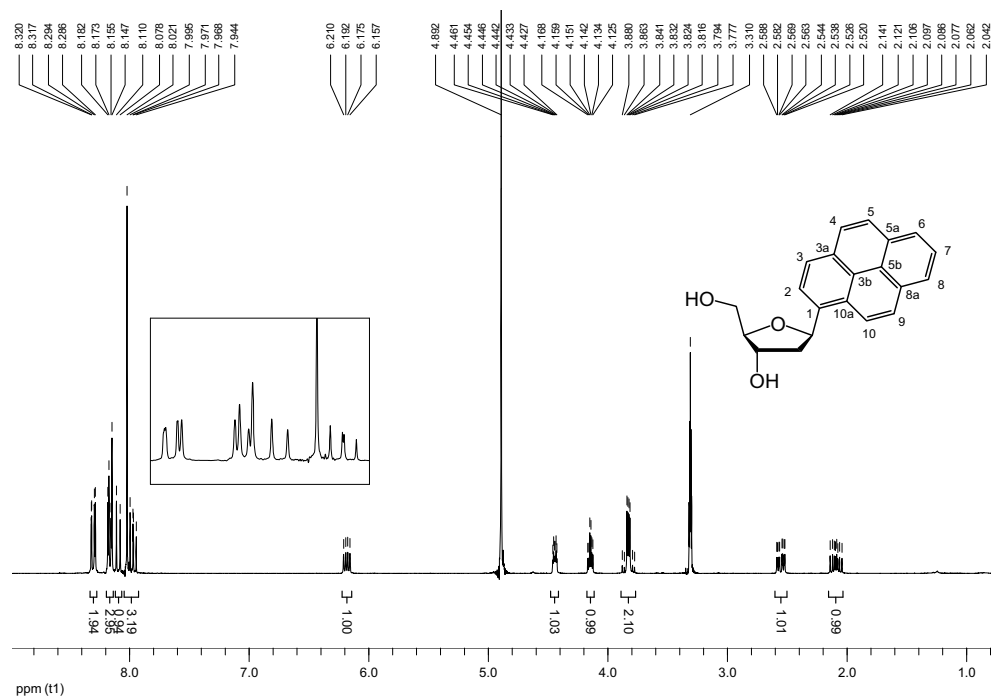
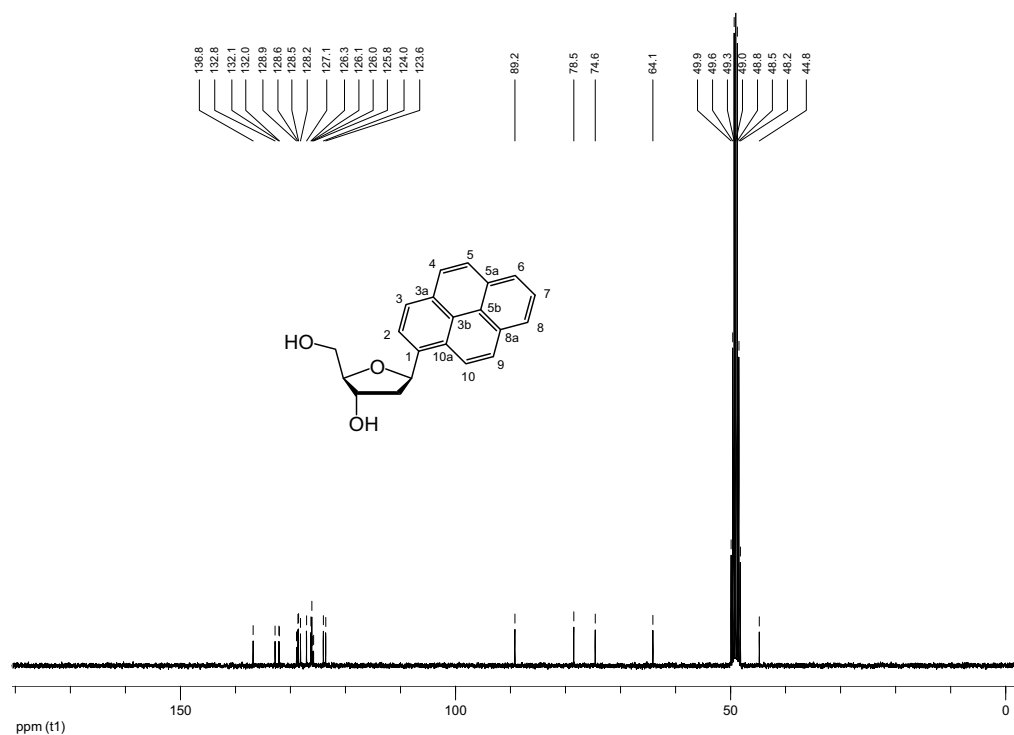
¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)¹³C-NMR (75.5 MHz; CDCl₃)

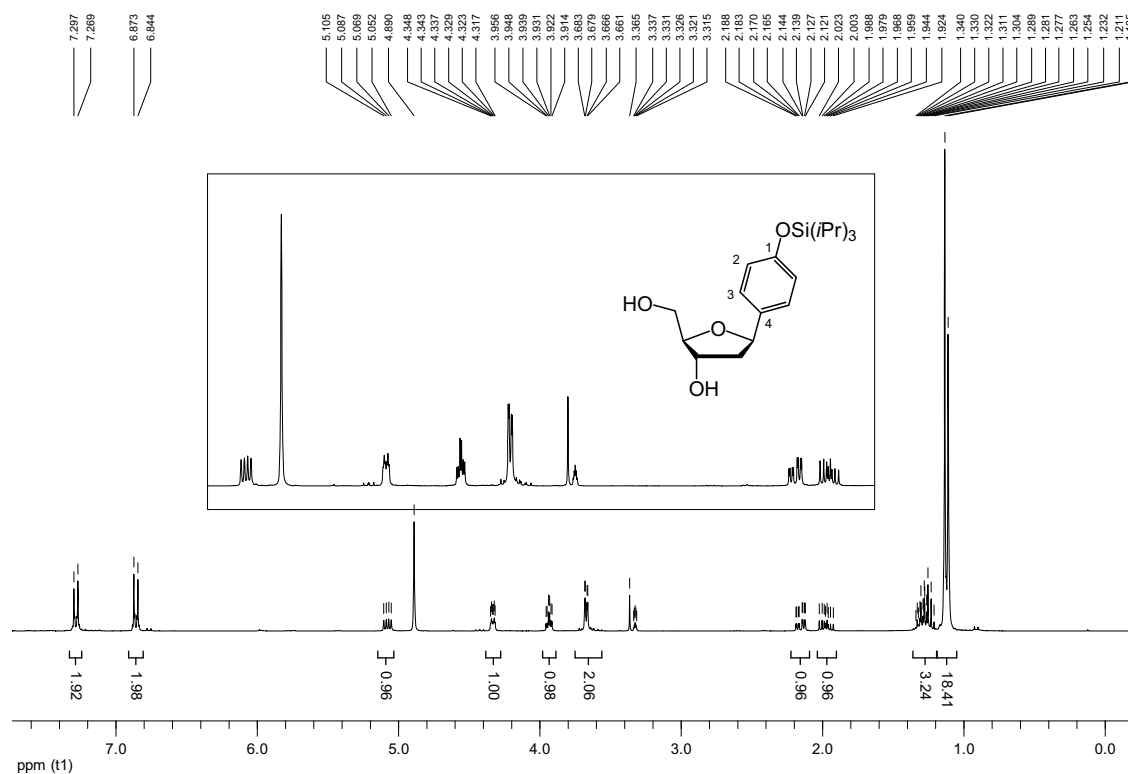
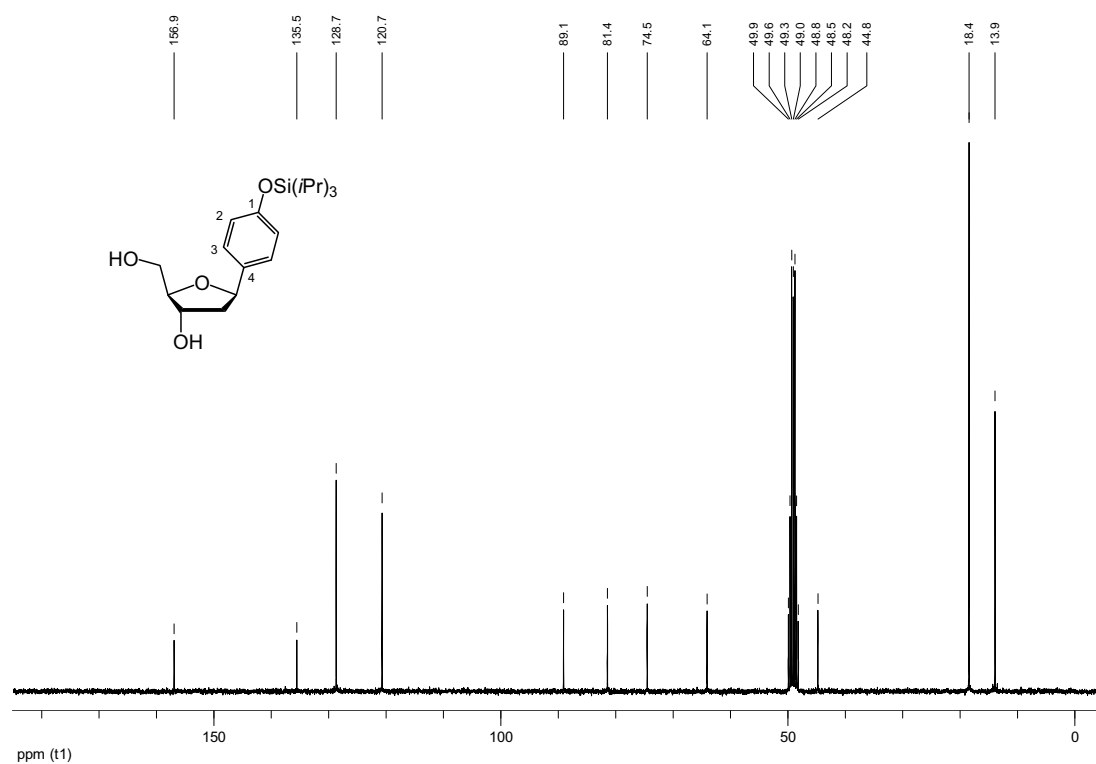
α -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(2-anthracenyloxy)ribofuranose (142ba)¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)NOESY (400 MHz; CDCl₃)

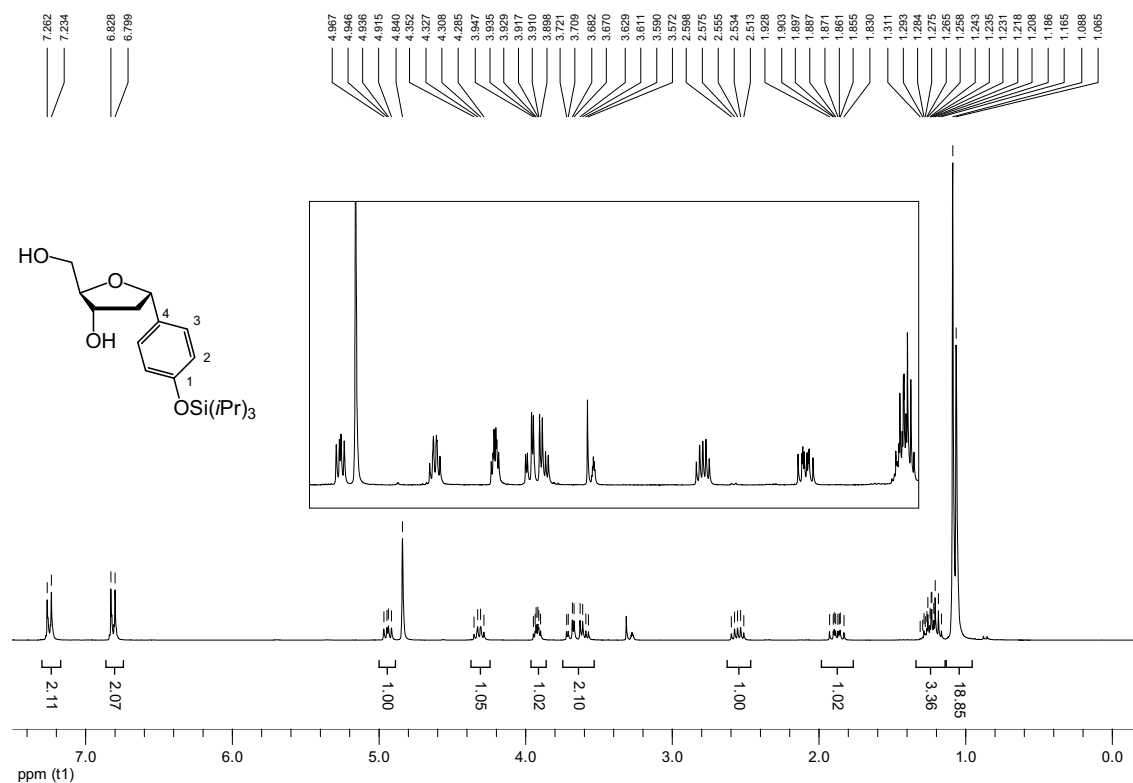
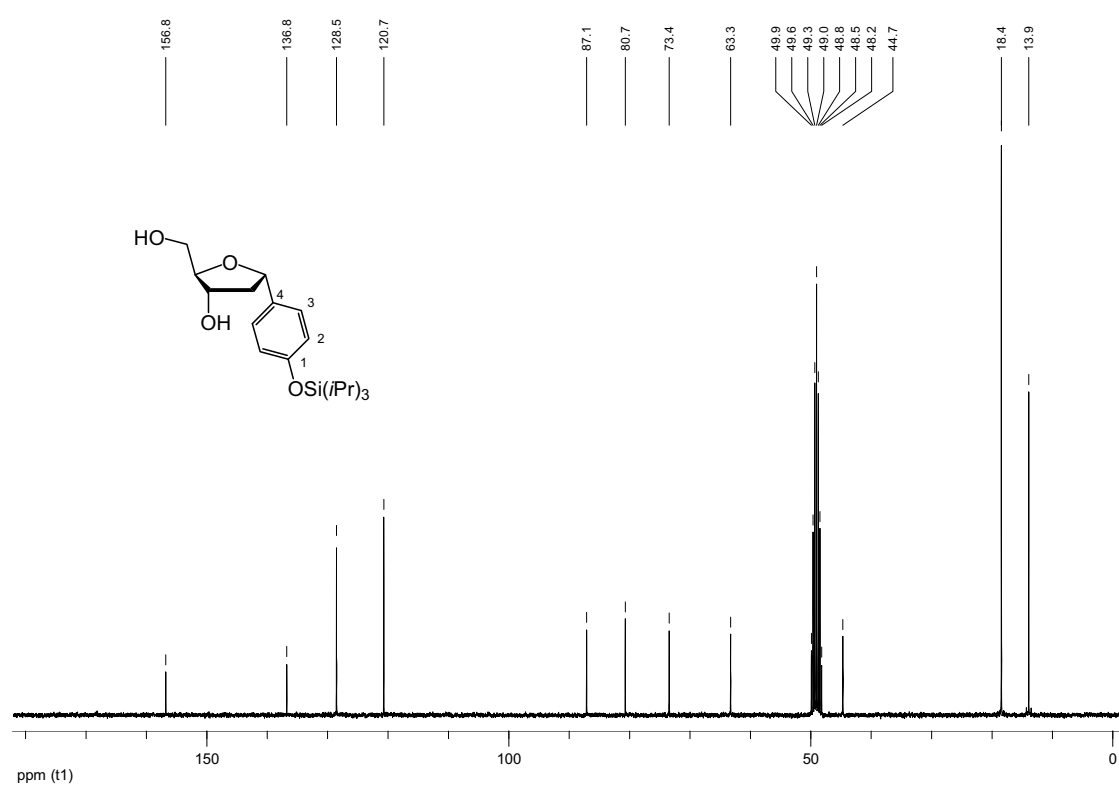
^{13}C -NMR (75.5 MHz; CDCl_3)*Weitere Toluylester* β -1'-Phenyloxo-2'-desoxy-3',5'-di-O-toluoyl-ribofuranose (142c β)NOESY (300 MHz; CDCl_3)

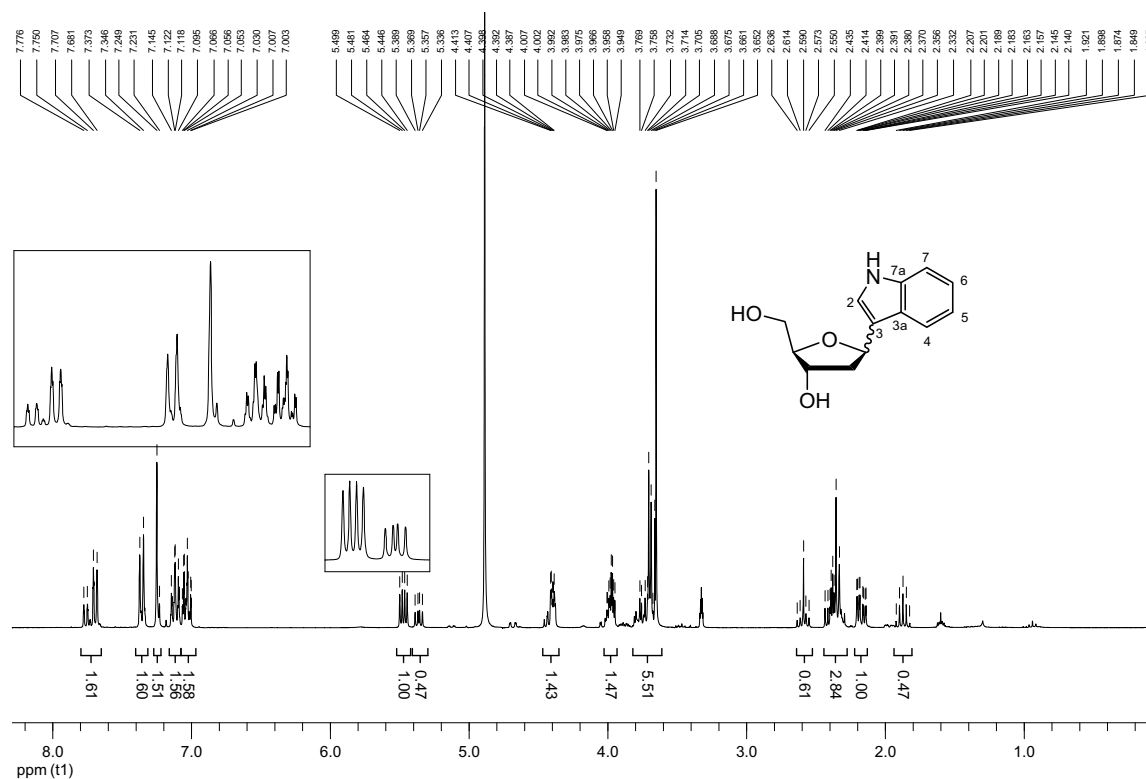
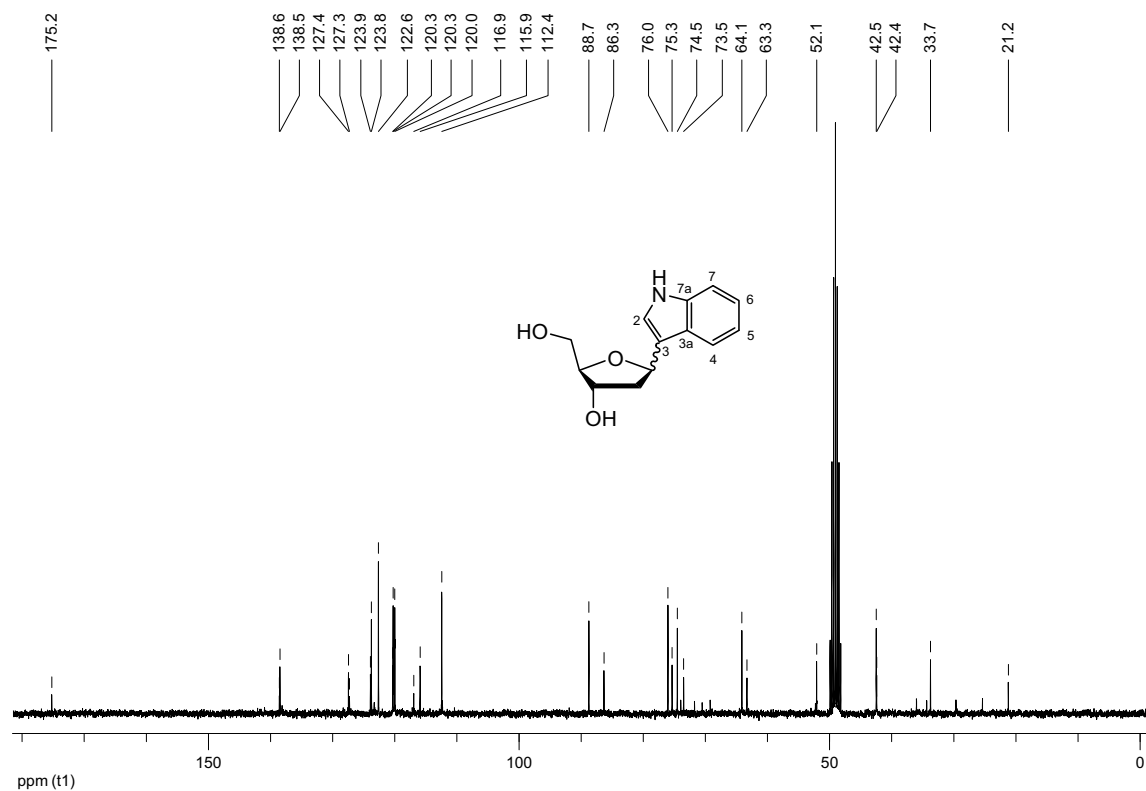
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) $^{13}\text{C-NMR}$ (100.1 MHz; CDCl_3)

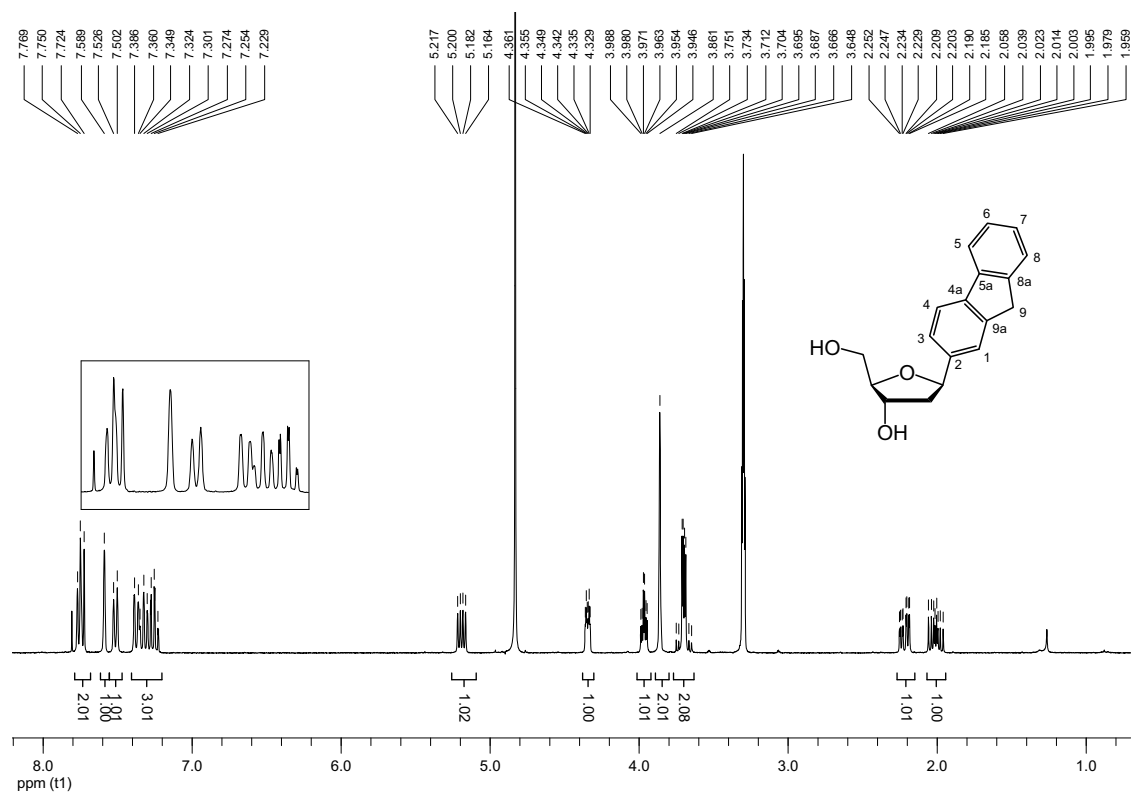
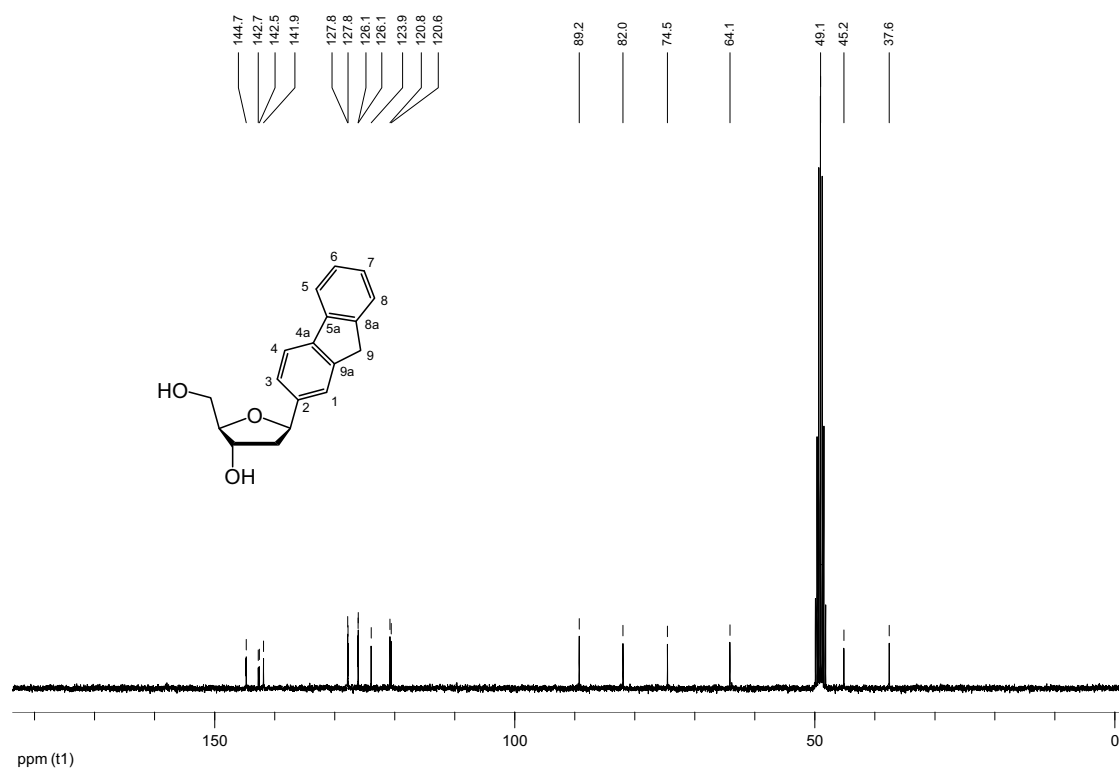
β -1',2'-Dideoxy-3',5'-di-*O*-toluoyl-1'-(1-indolyl)ribofuranose (134t β)¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)¹³C-NMR (75.5 MHz; CDCl₃)

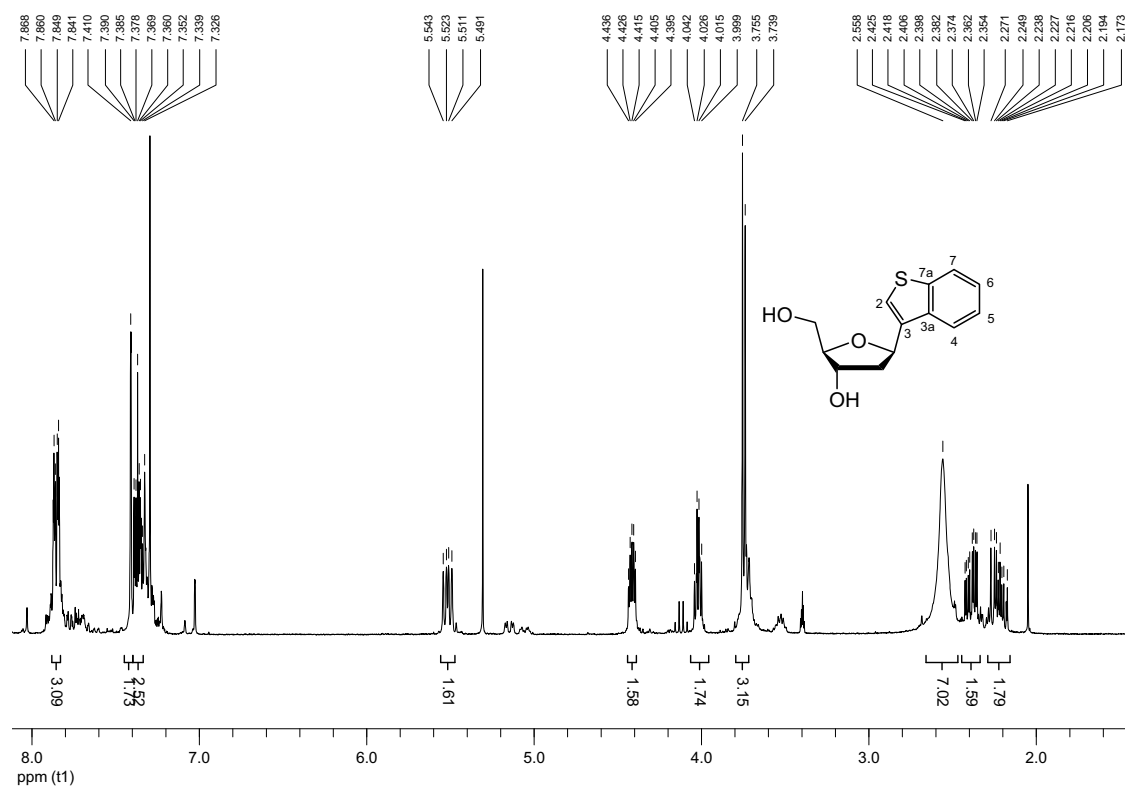
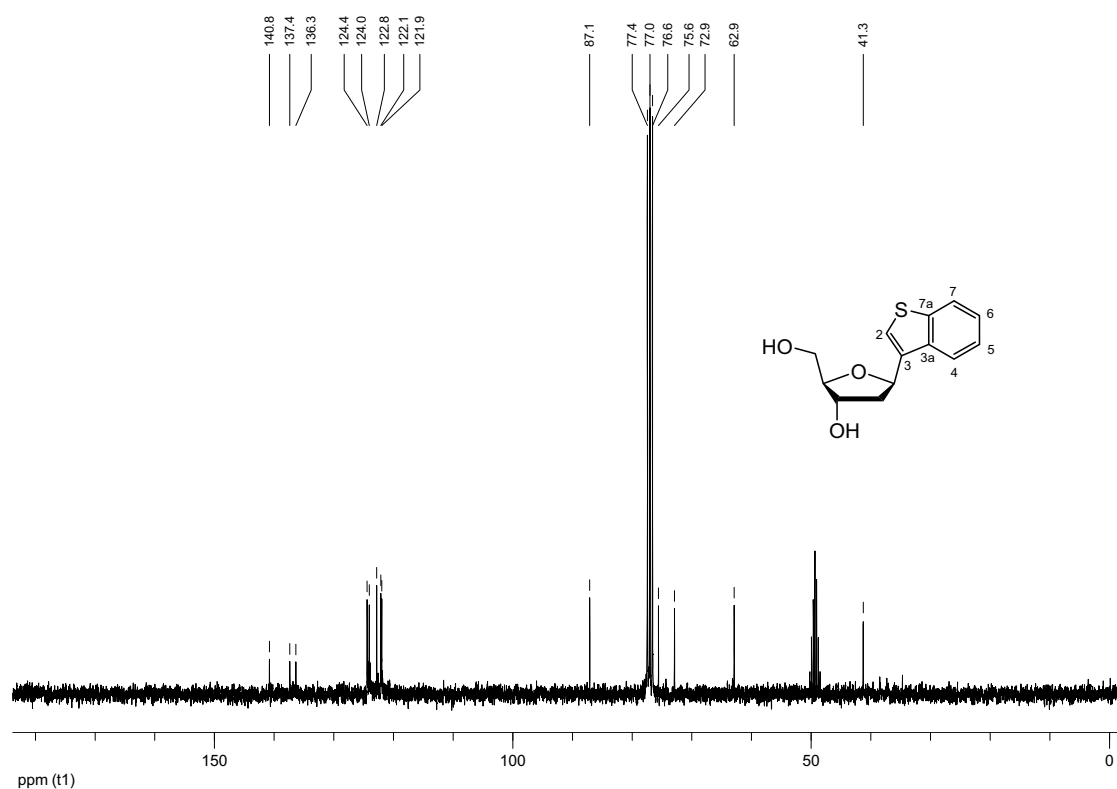
Nukleoside **β -1',2'-Dideoxy-1'-(1-pyrenyl)ribofuranose (81)**¹H-NMR (300 MHz; Methanol-d₄)¹³C-NMR (75.5 MHz; Methanol-d₄)

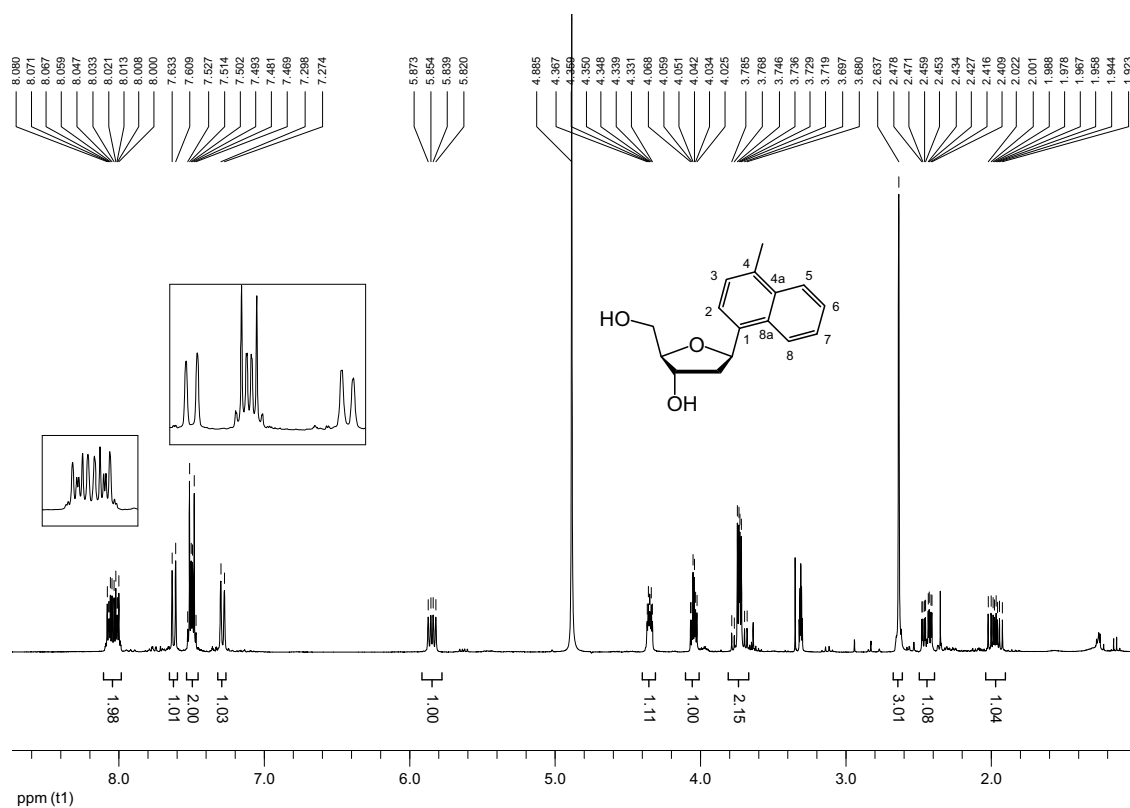
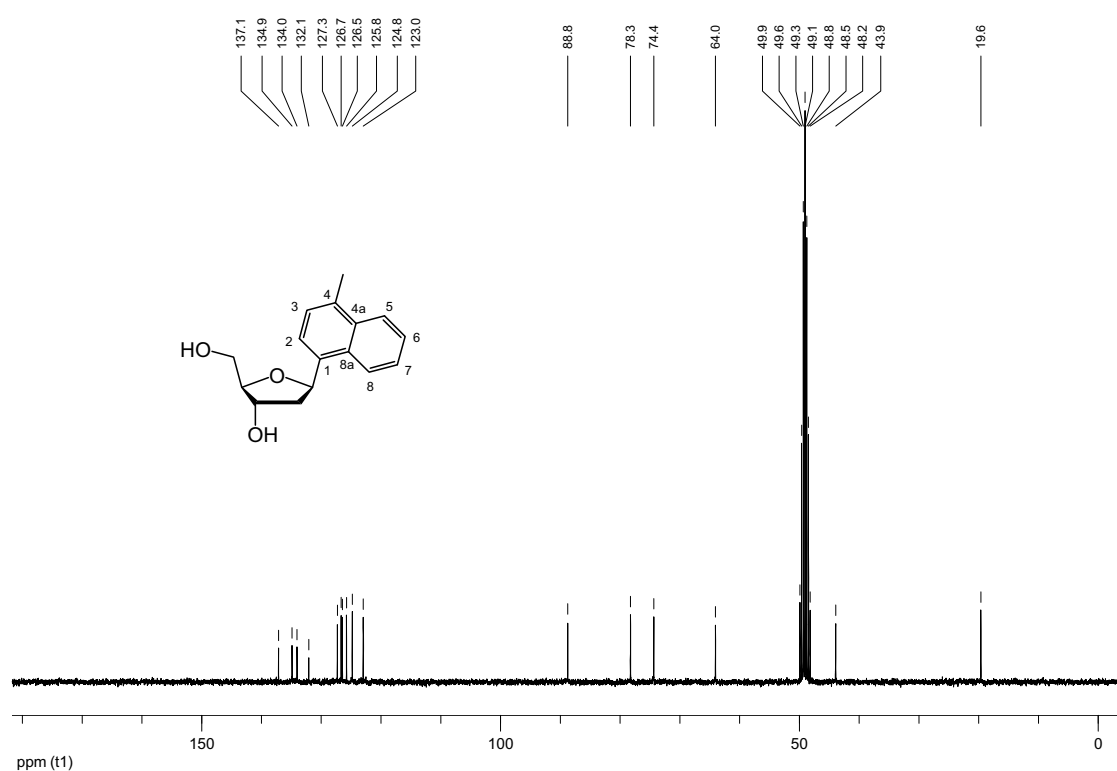
β -1',2'-Dideoxy-1'-(4-triisopropylsilyloxyphenyl)ribofuranose (101) $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; MeOH-d_4) $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz; MeOH-d_4)

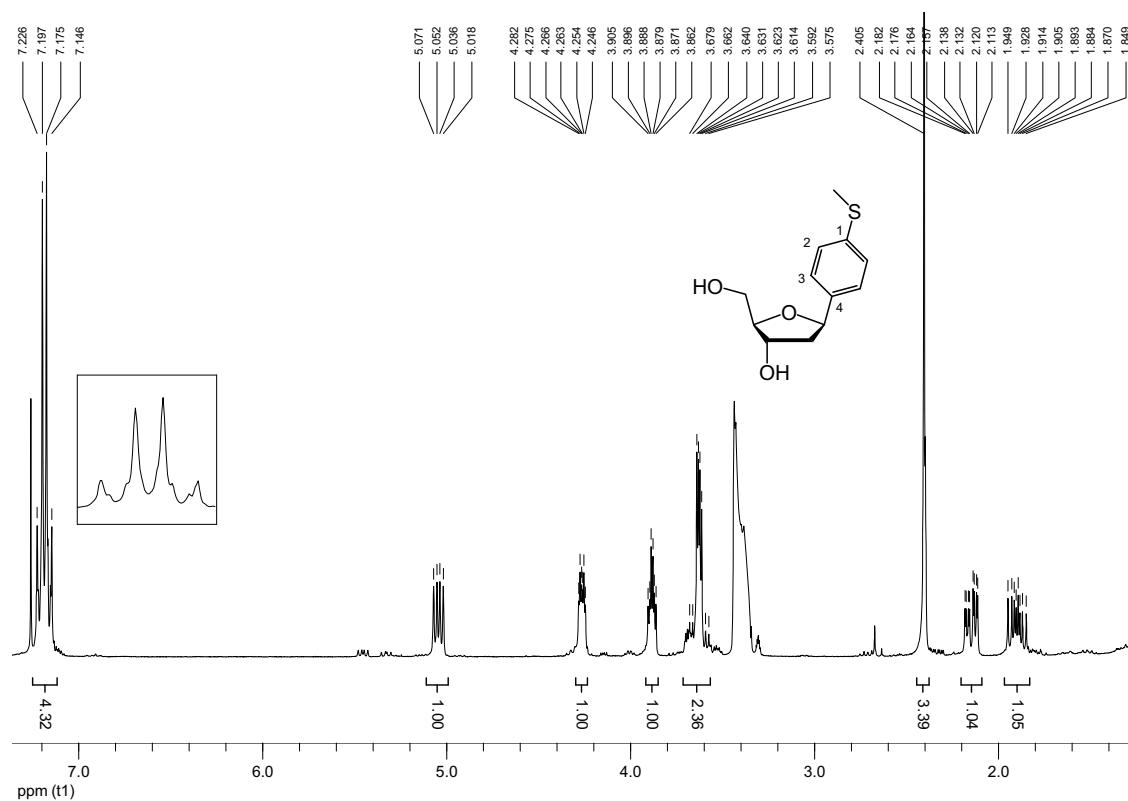
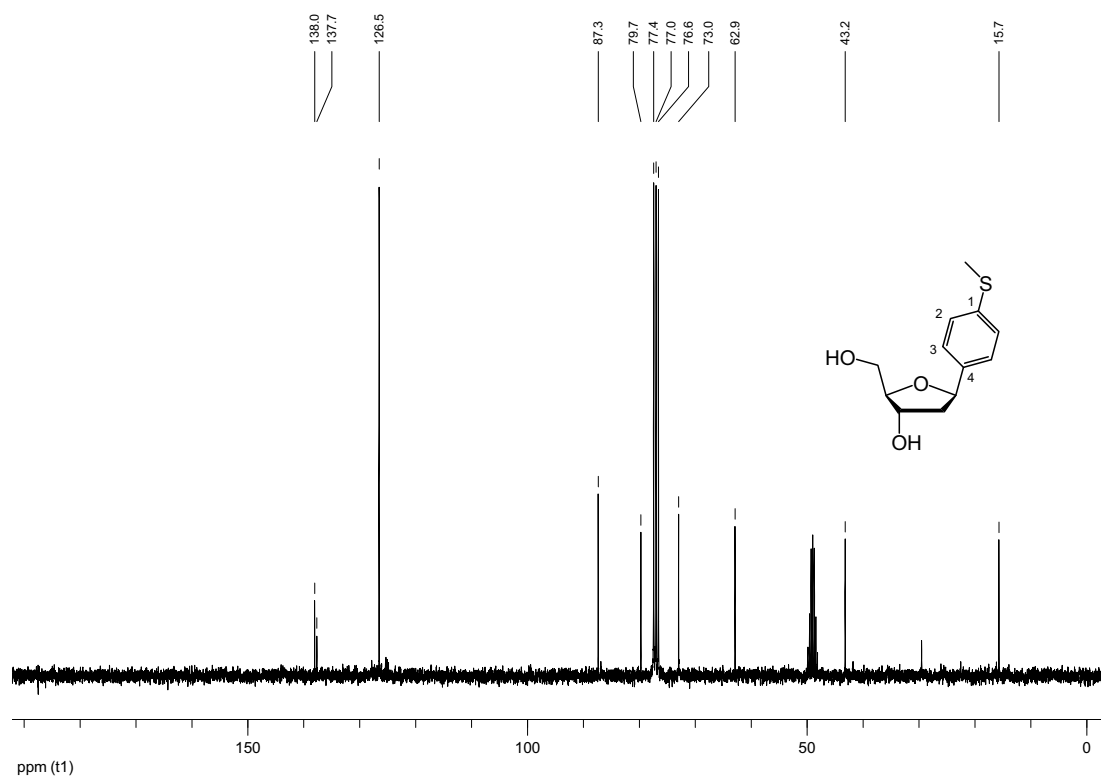
α -1',2'-Dideoxy-1'-(4-triisopropylsilyloxyphenyl)ribofuranose (102)¹H-NMR (300 MHz; MeOH-d₄)¹³C-NMR (75.5 MHz; MeOH-d₄)

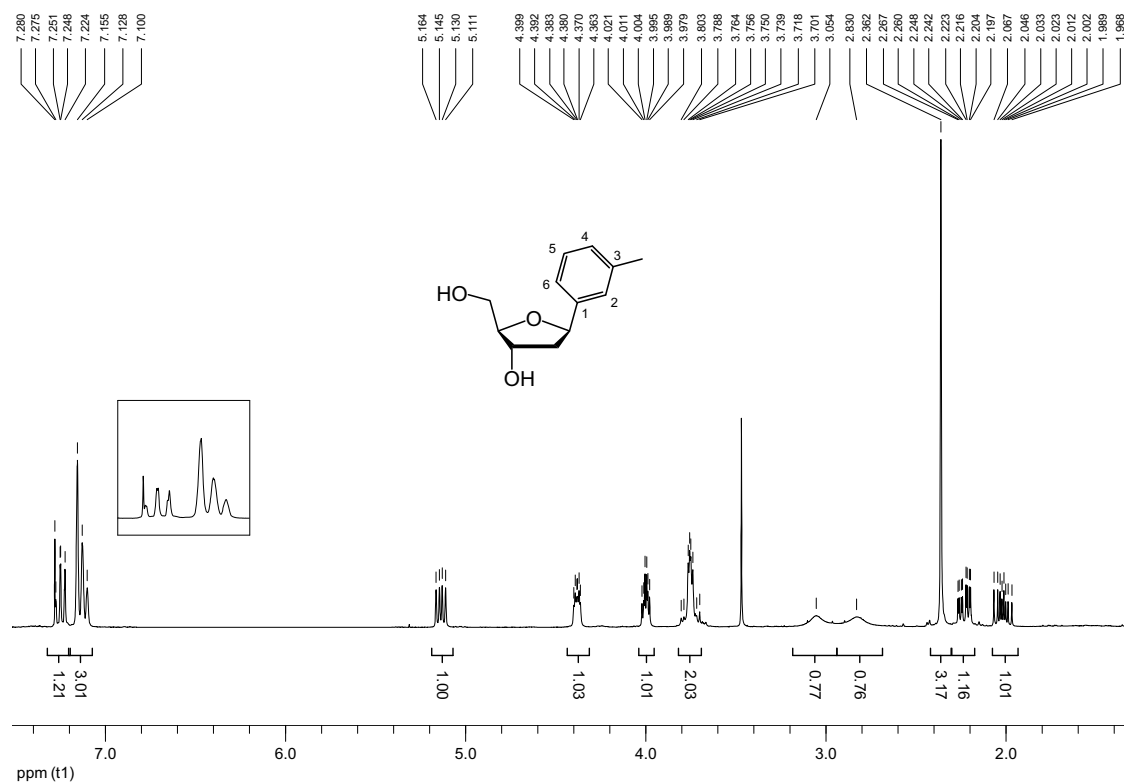
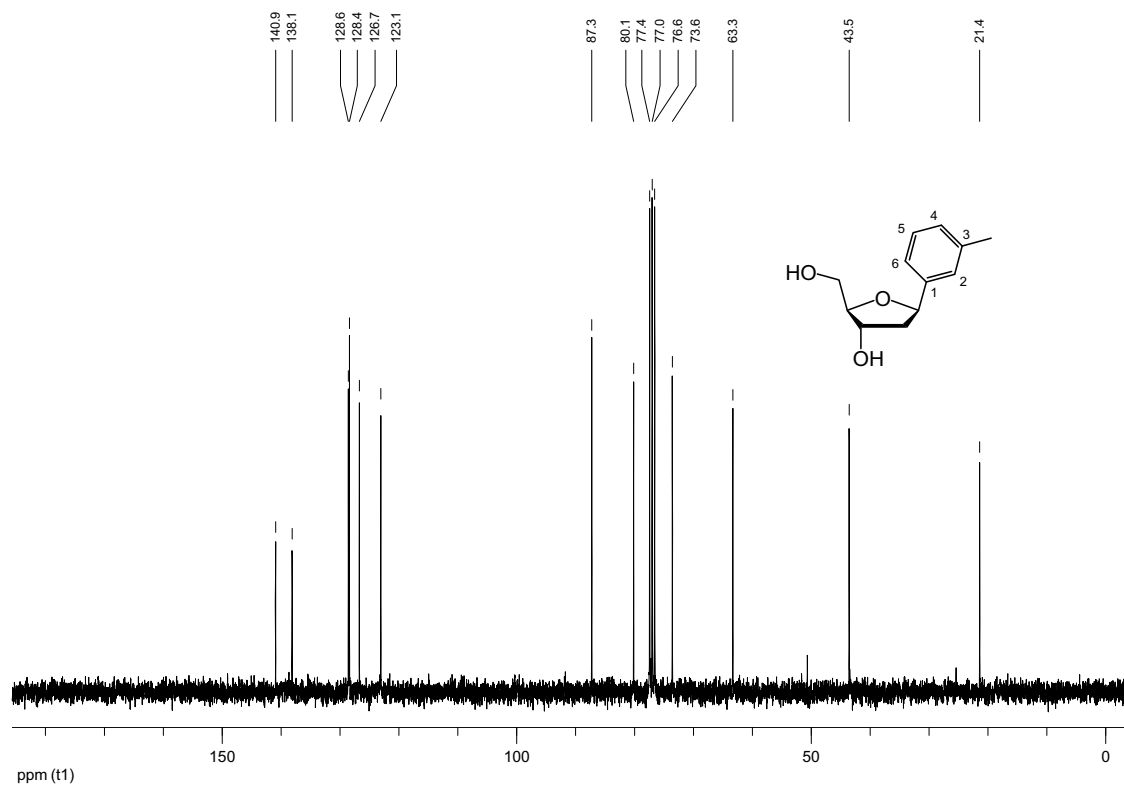
α,β -1',2'-Dideoxy-1'-(3-indolyl)ribofuranose (99)¹H-NMR (300 MHz; MeOH-d₄)¹³C-NMR (75.5 MHz; MeOH-d₄)

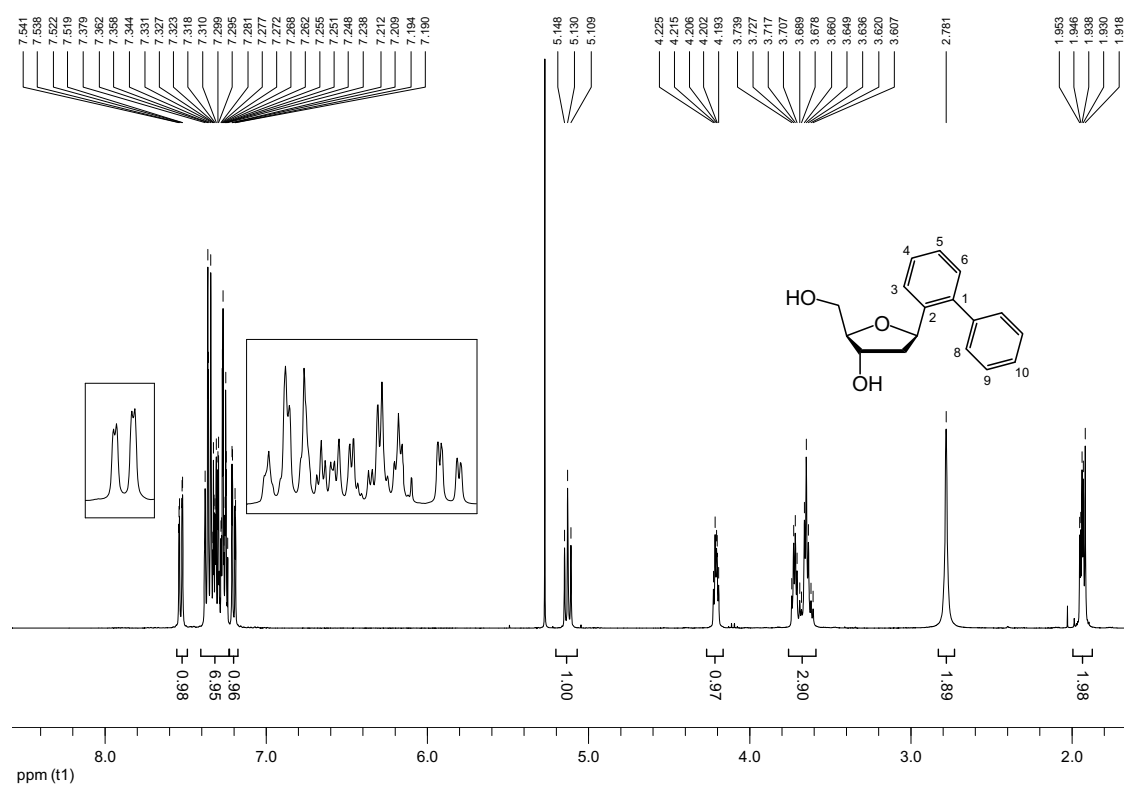
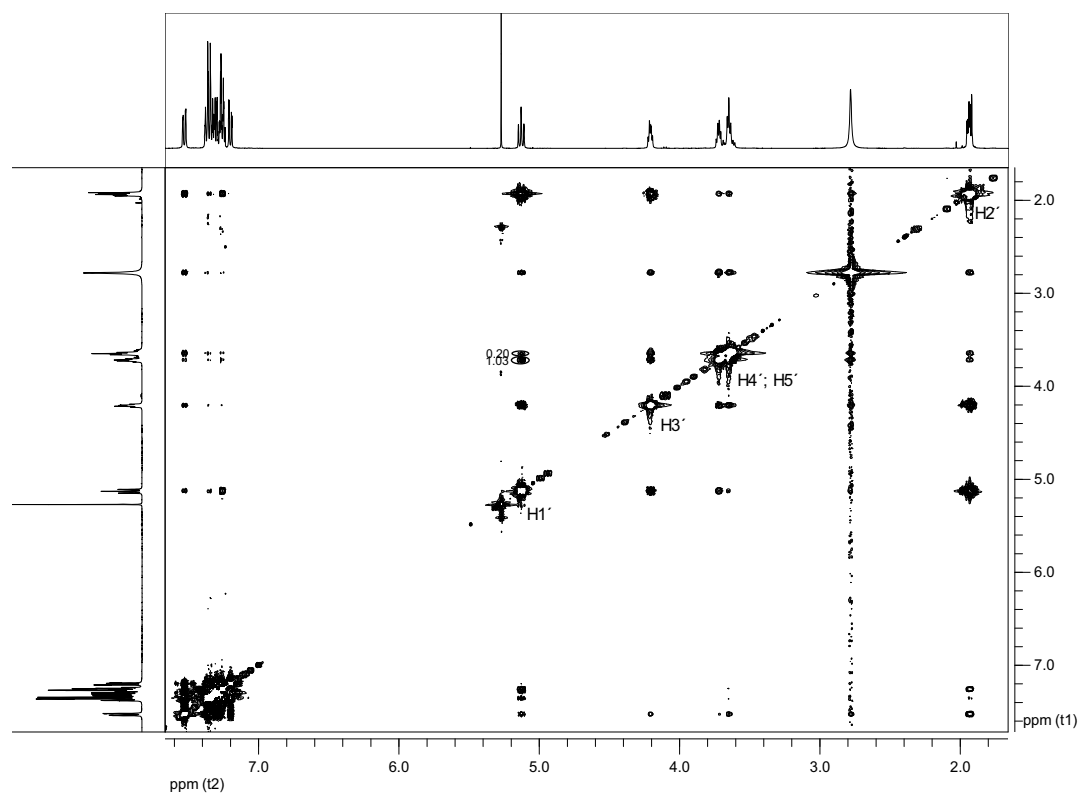
β -1',2'-Dideoxy-1'-(2-fluorenyl)ribofuranose (92)¹H-NMR (300 MHz; Methanol-d₄)¹³C-NMR (75.5 MHz; Methanol-d₄)

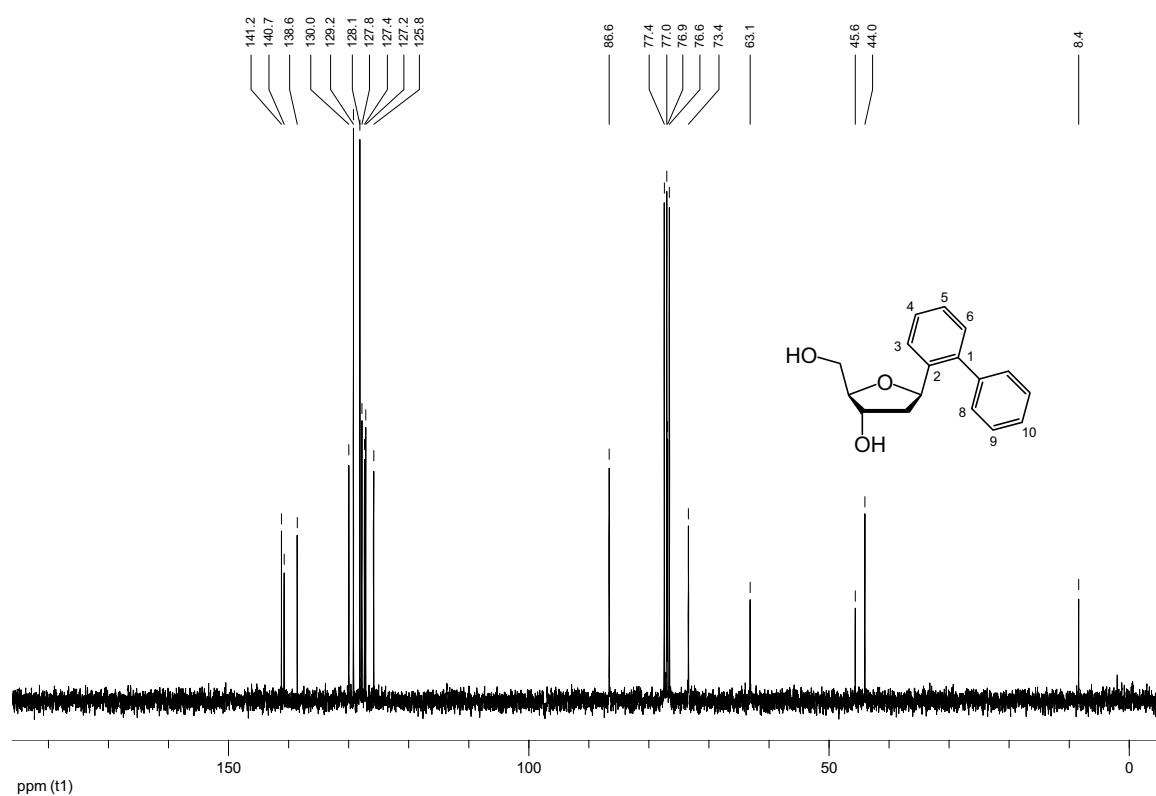
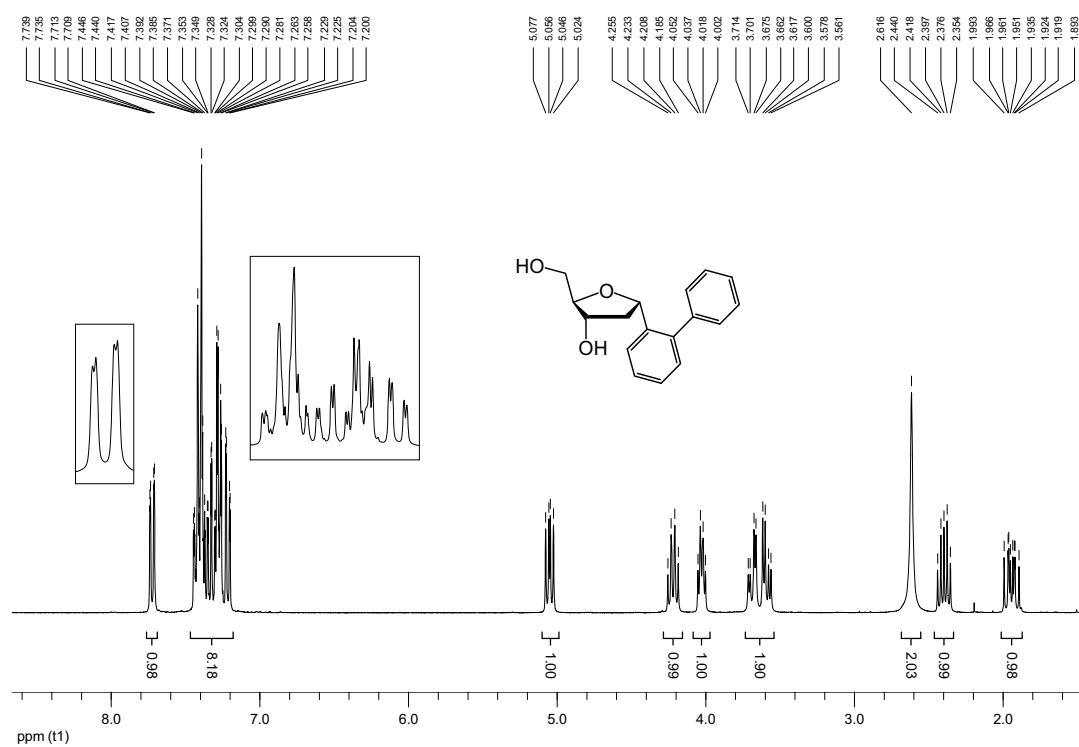
β -1',2'-Dideoxy-1'-(3-benzothiophenyl)ribofuranose (103) $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; CDCl_3 :Methanol- d_4 = 6:1) $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz; CDCl_3 :Methanol- d_4 = 6:1)

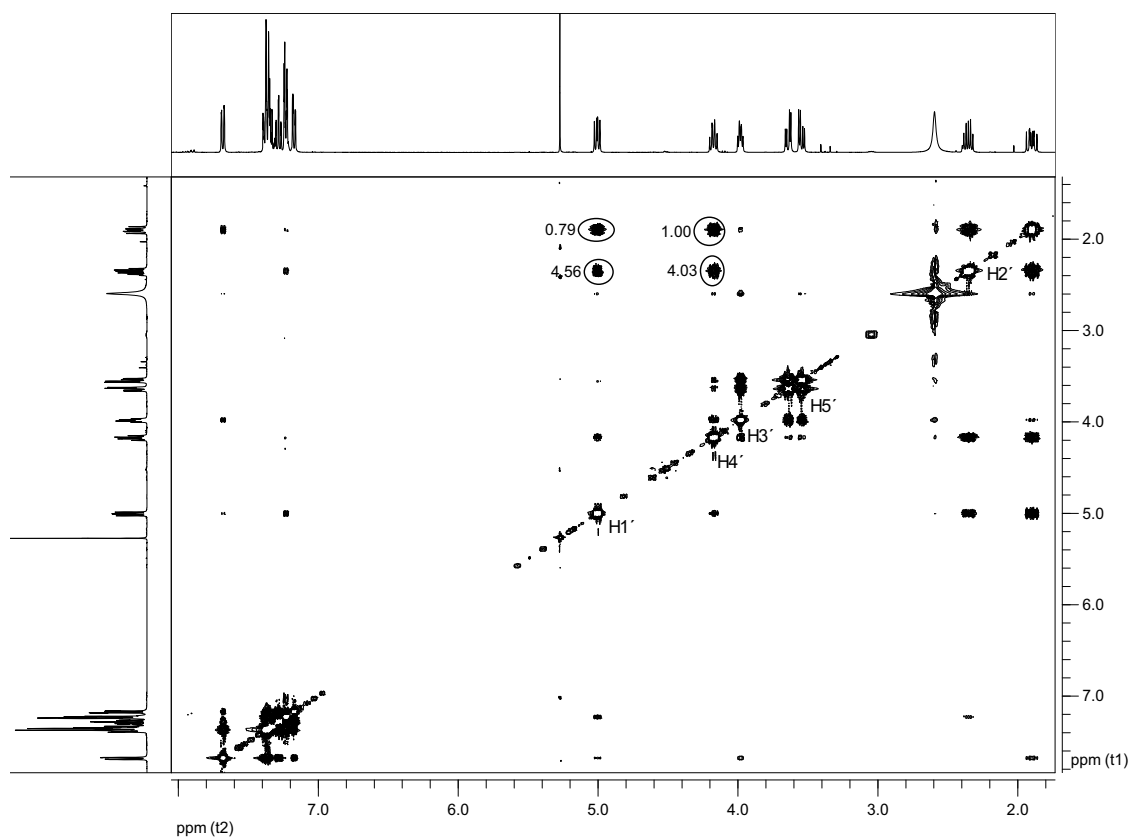
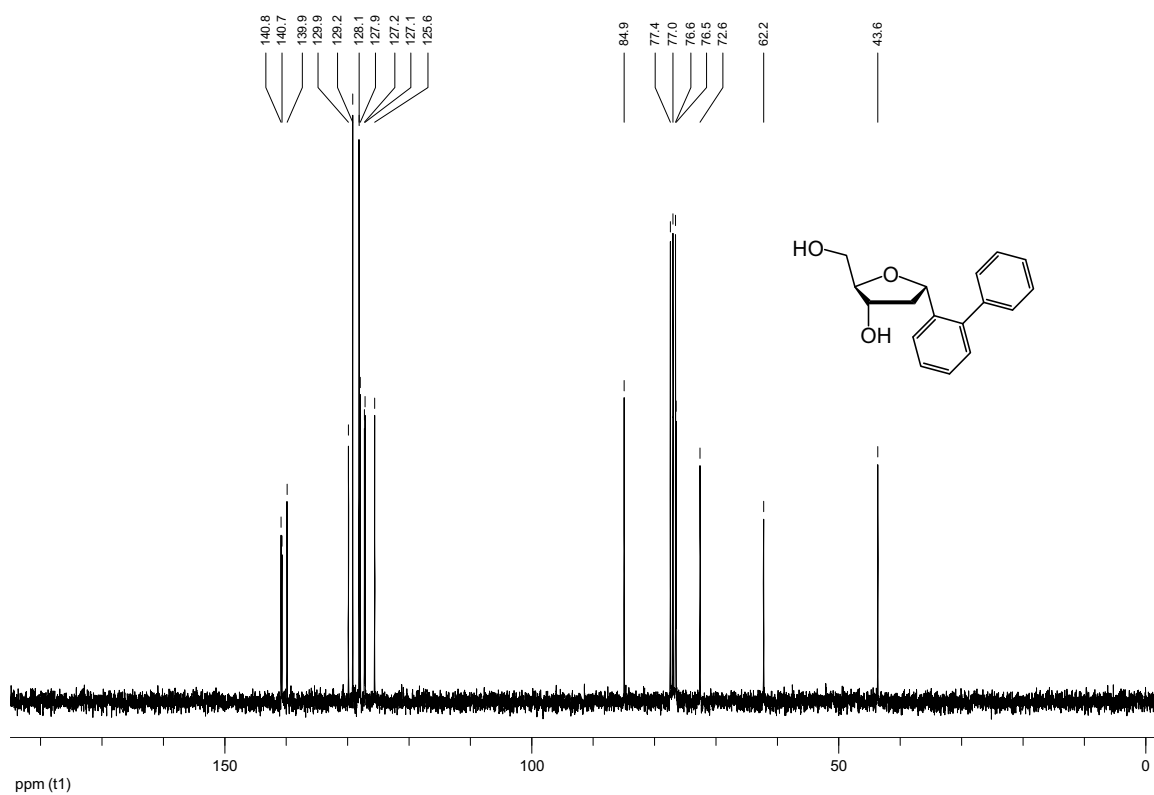
β -1',2'-Dideoxy-1'-(1-(4-methyl)naphthyl)ribofuranose (83)¹H-NMR (300 MHz; Methanol-d₄)¹³C-NMR (75.5 MHz; Methanol-d₄)

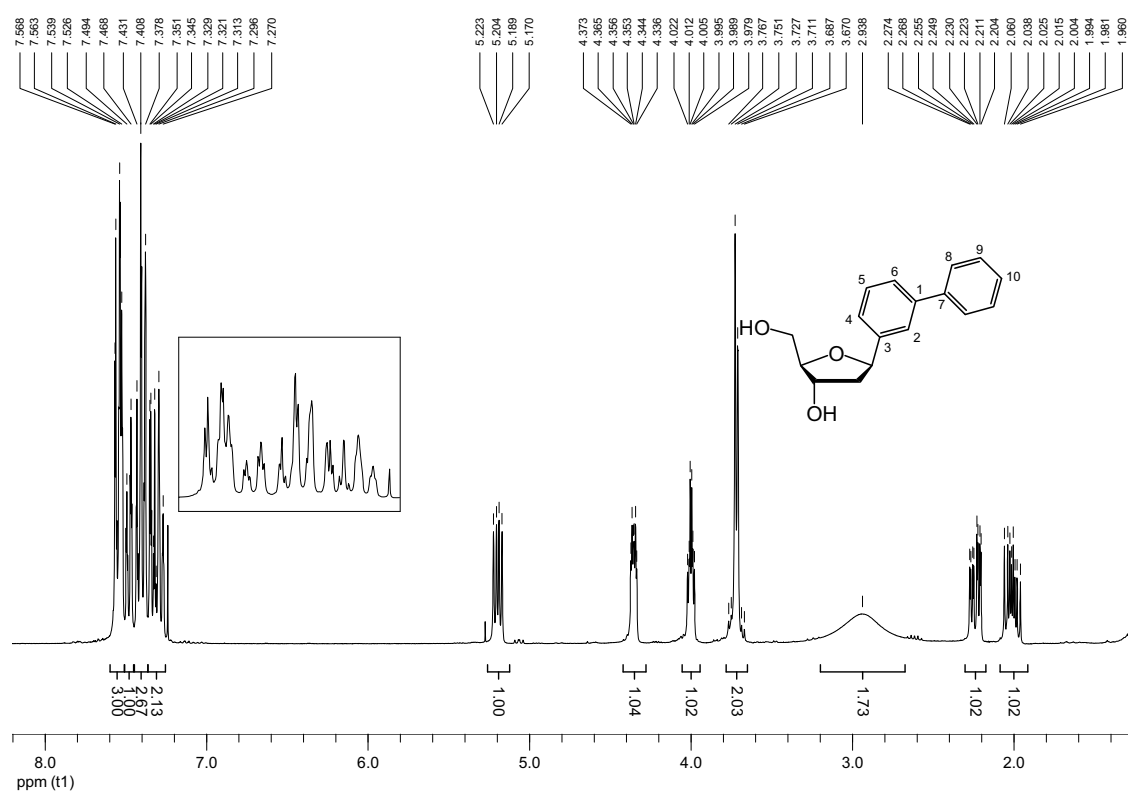
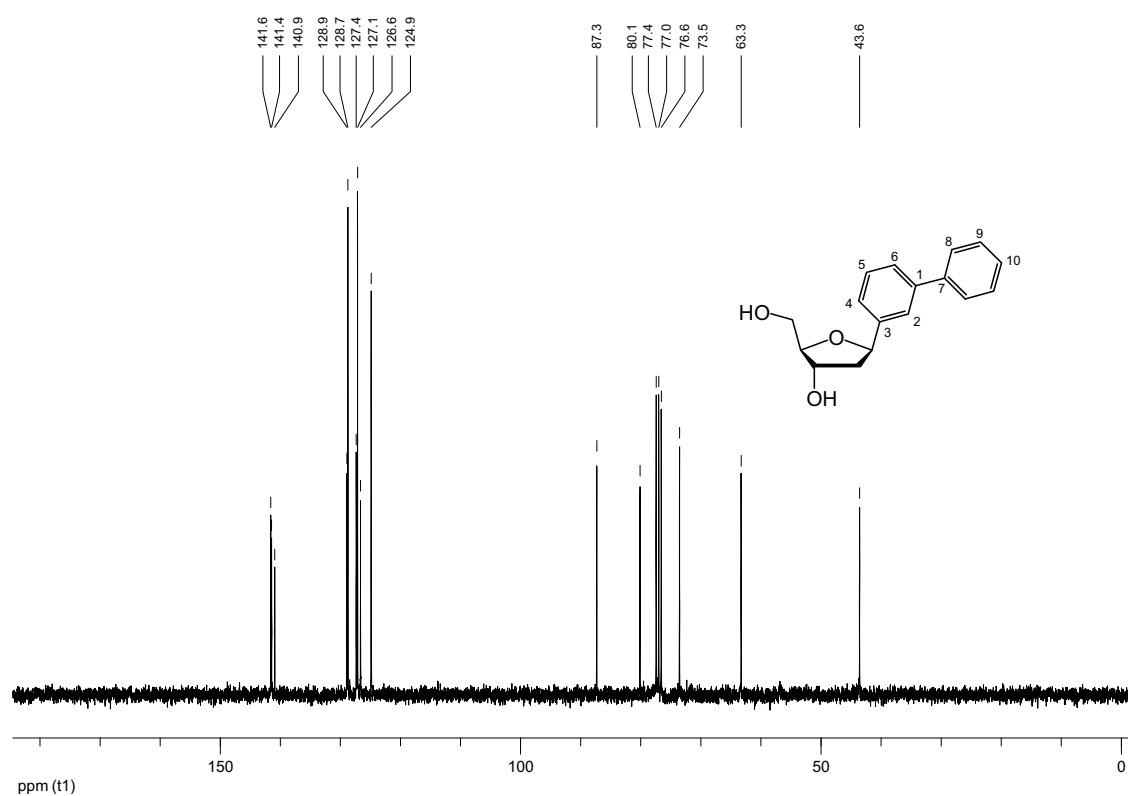
β -1',2'-Dideoxy-1'-(4-(methylthio)phenyl)ribofuranose (104)¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃-methanol-d₄ 6:1)¹³C-NMR (75.5 MHz; CDCl₃-methanol-d₄ 6:1)

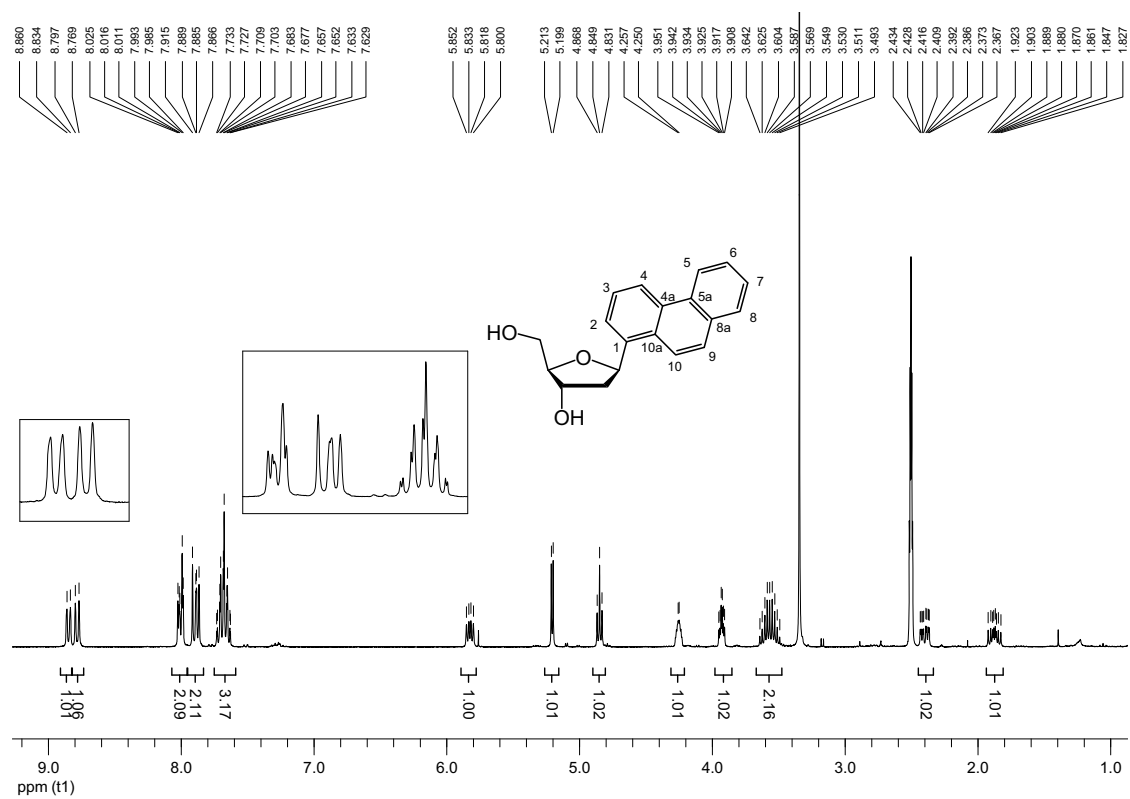
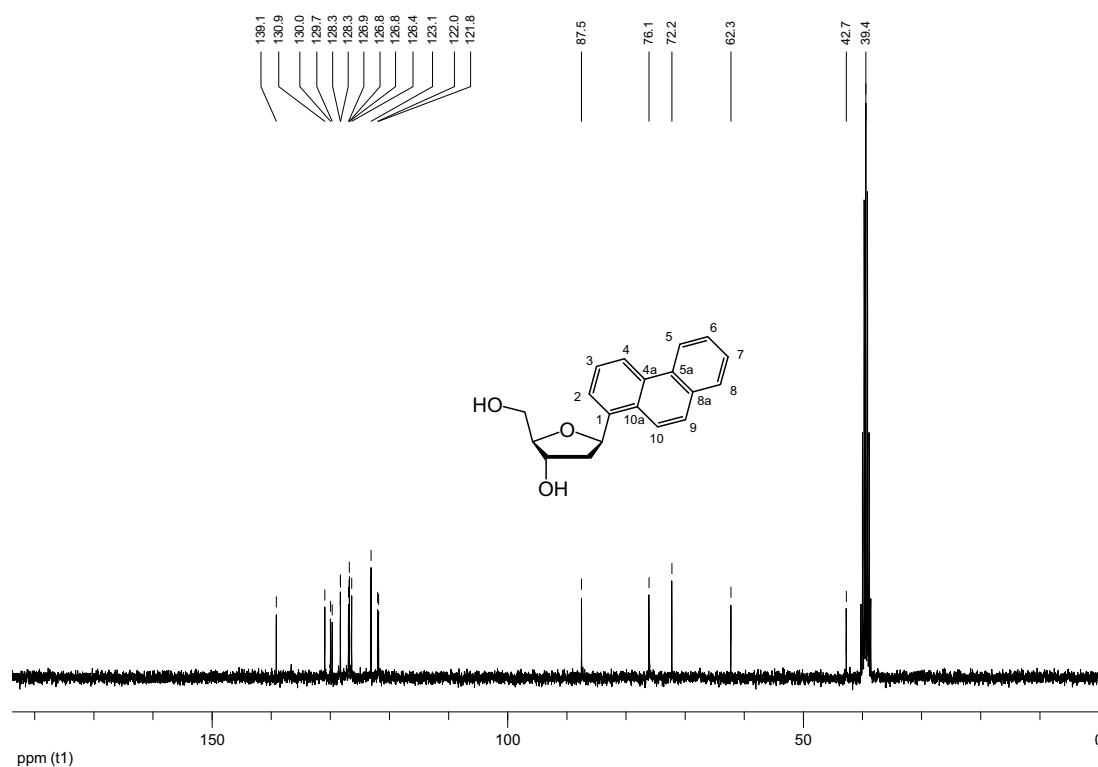
β -1',2'-Dideoxy-1'-(3-tolyl)ribofuranose (96) $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; CDCl_3) $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz; CDCl_3)

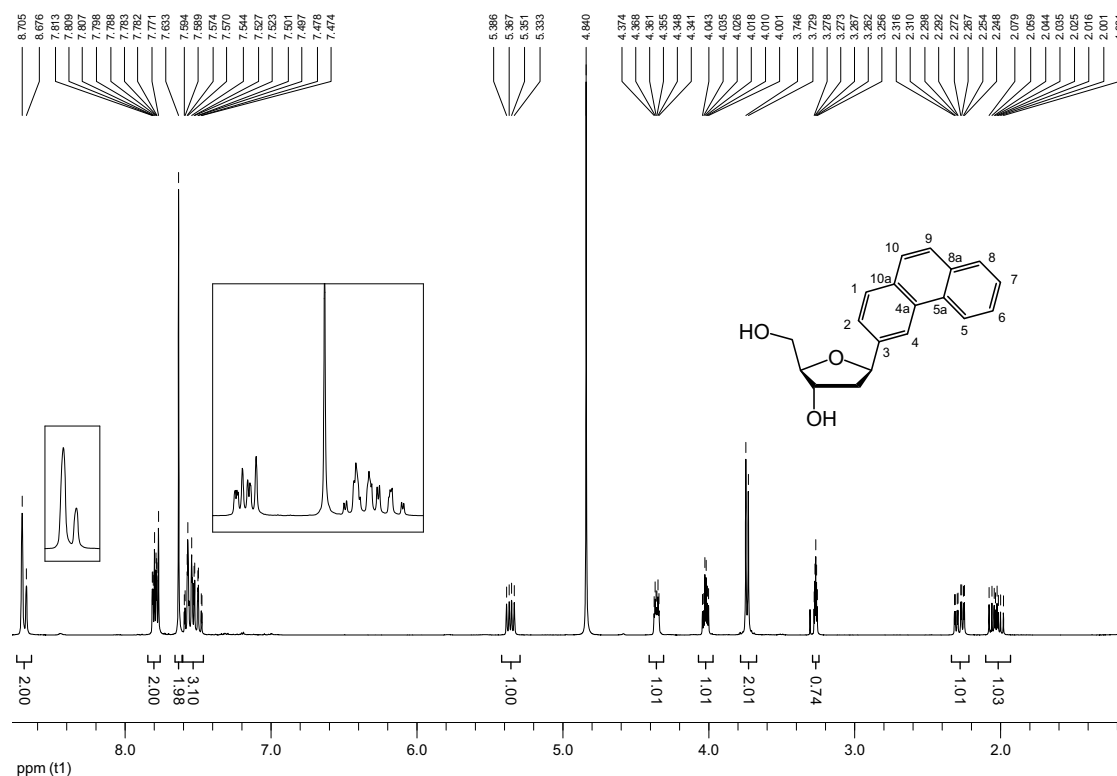
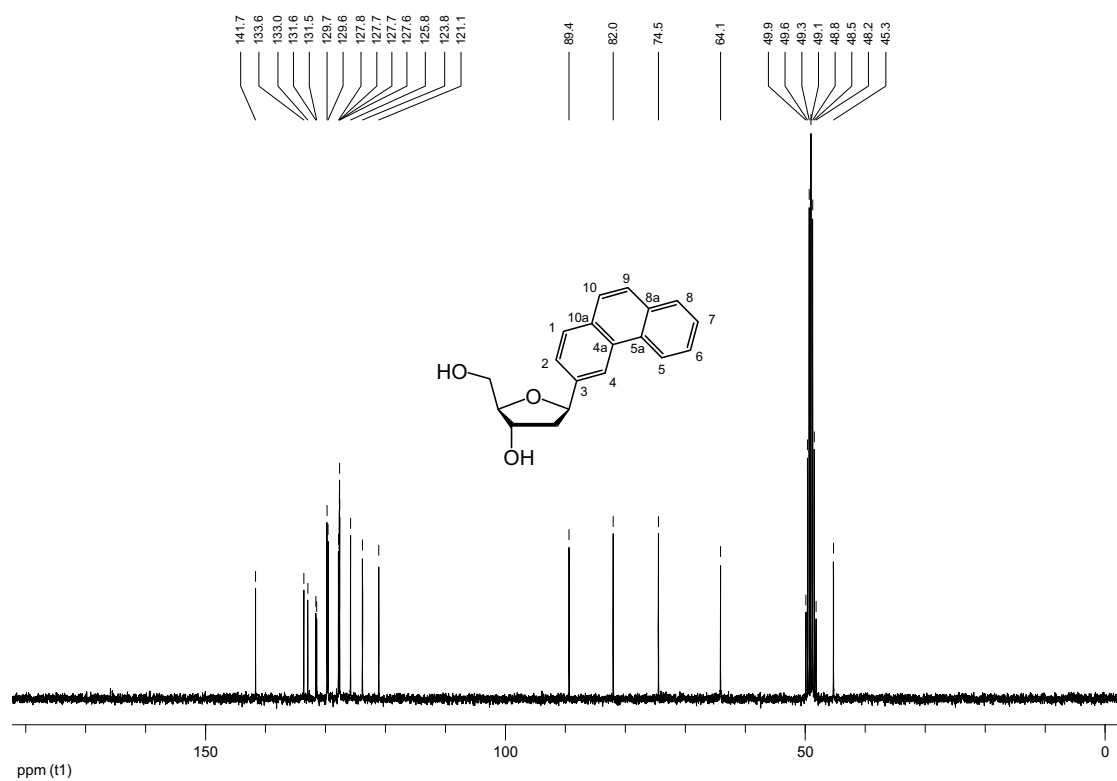
β -1',2'-Dideoxy-1'-(2-biphenyl)ribofuranose (93 β) ^1H -NMR (400 MHz; CDCl_3)NOESY (400 MHz; CDCl_3)

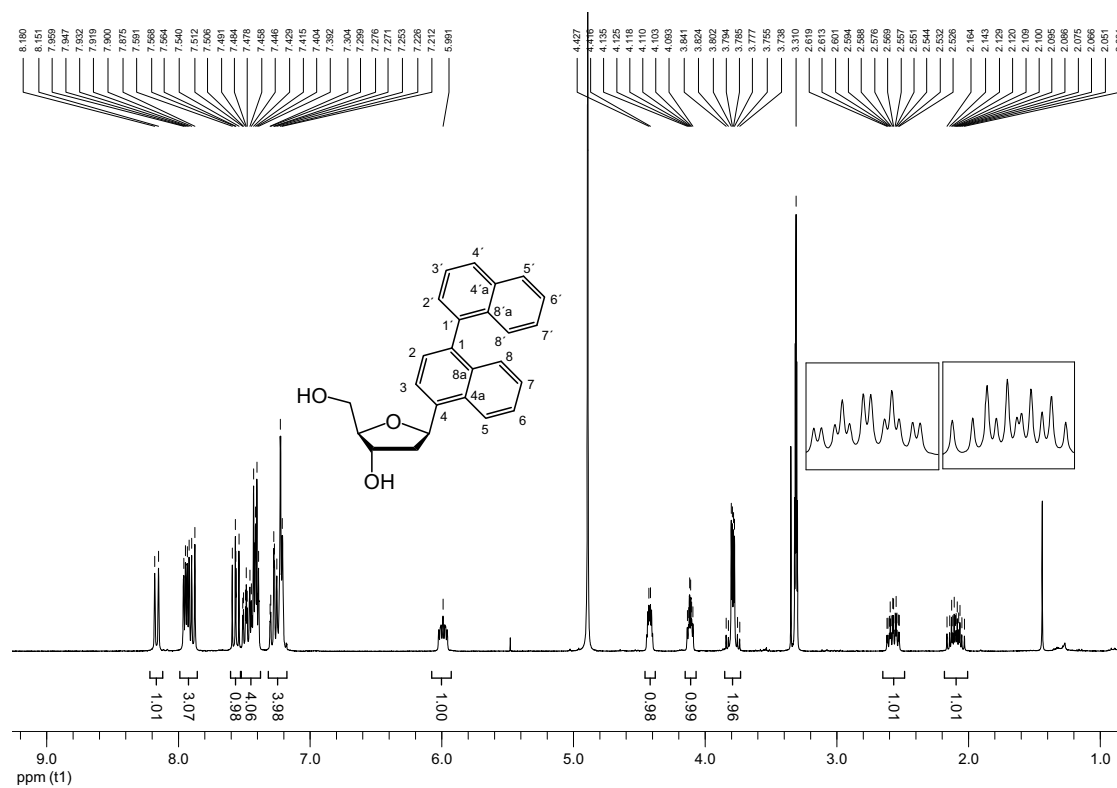
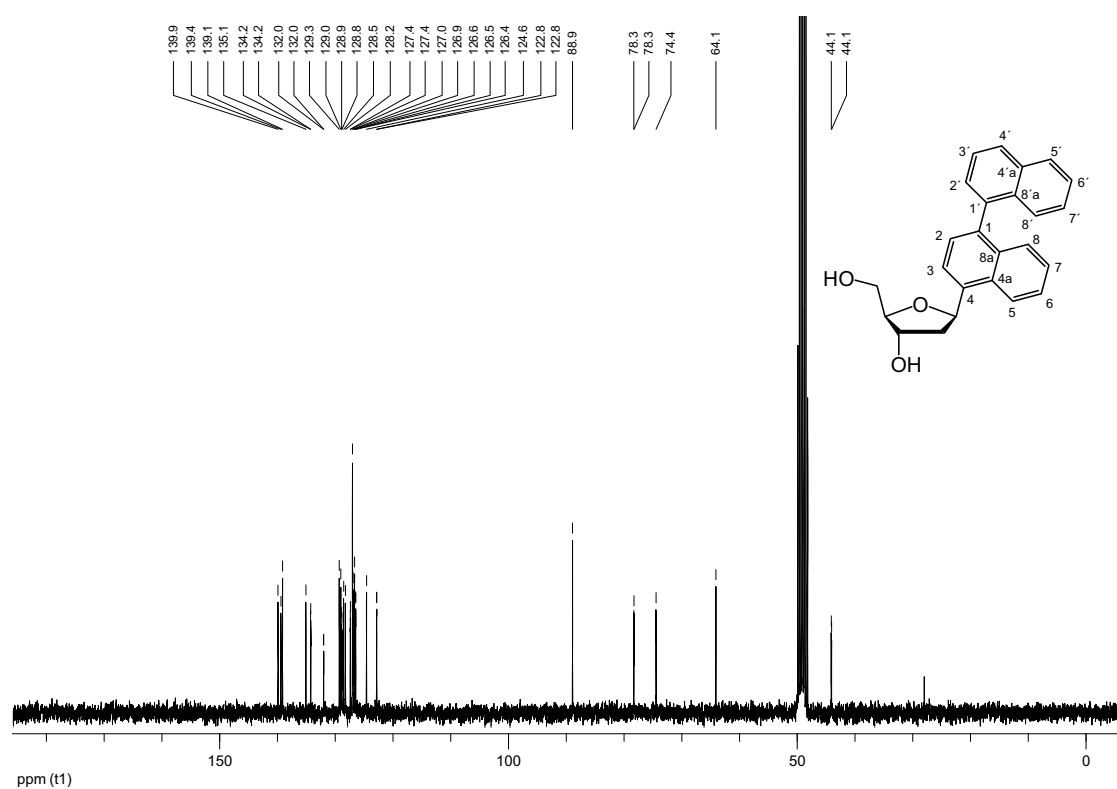
^{13}C -NMR (75.5 MHz; CDCl_3) α -1',2'-Dideoxy-1'-(2-biphenyl)ribofuranose (93a) ^1H -NMR (300 MHz; CDCl_3)

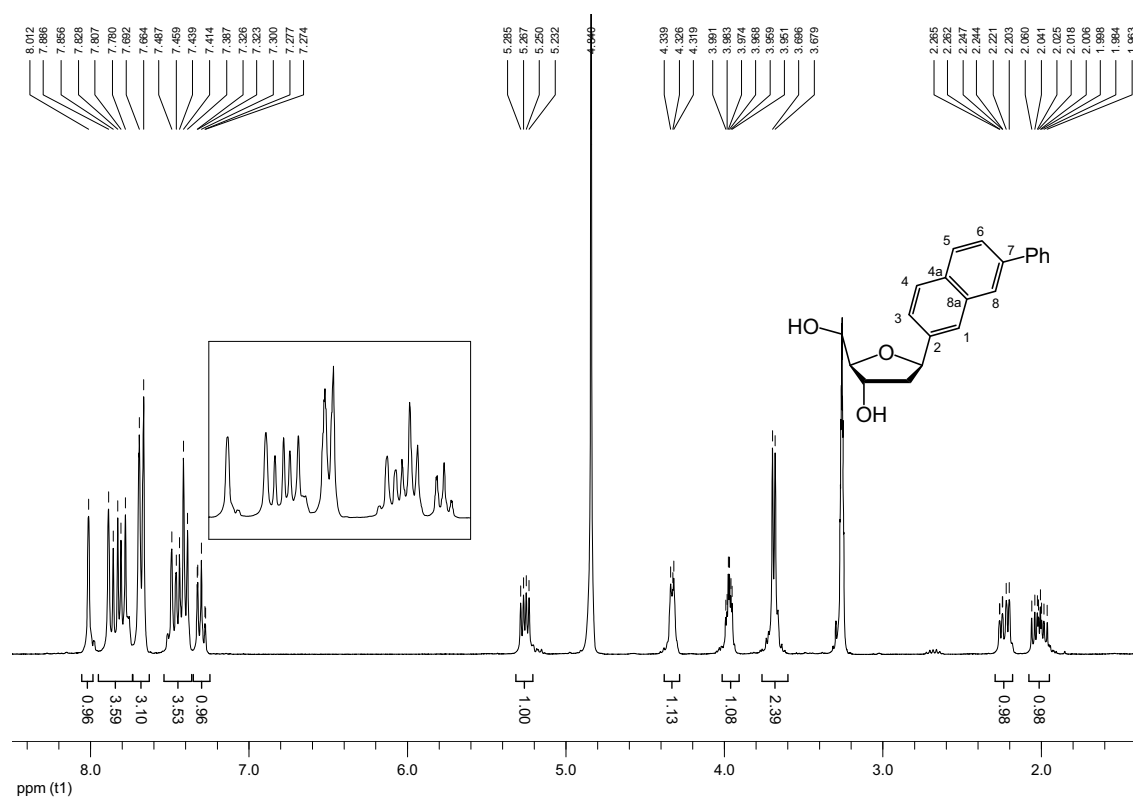
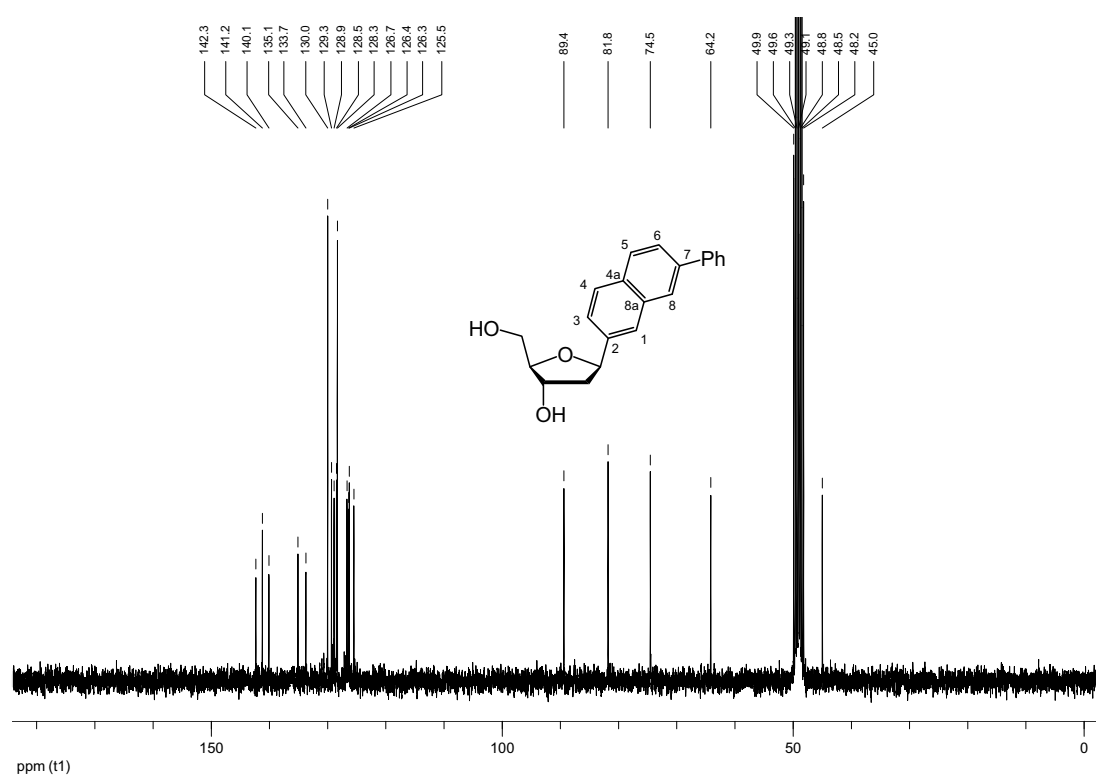
NOESY (400 MHz; CDCl₃)¹³C-NMR (75.5 MHz; CDCl₃)

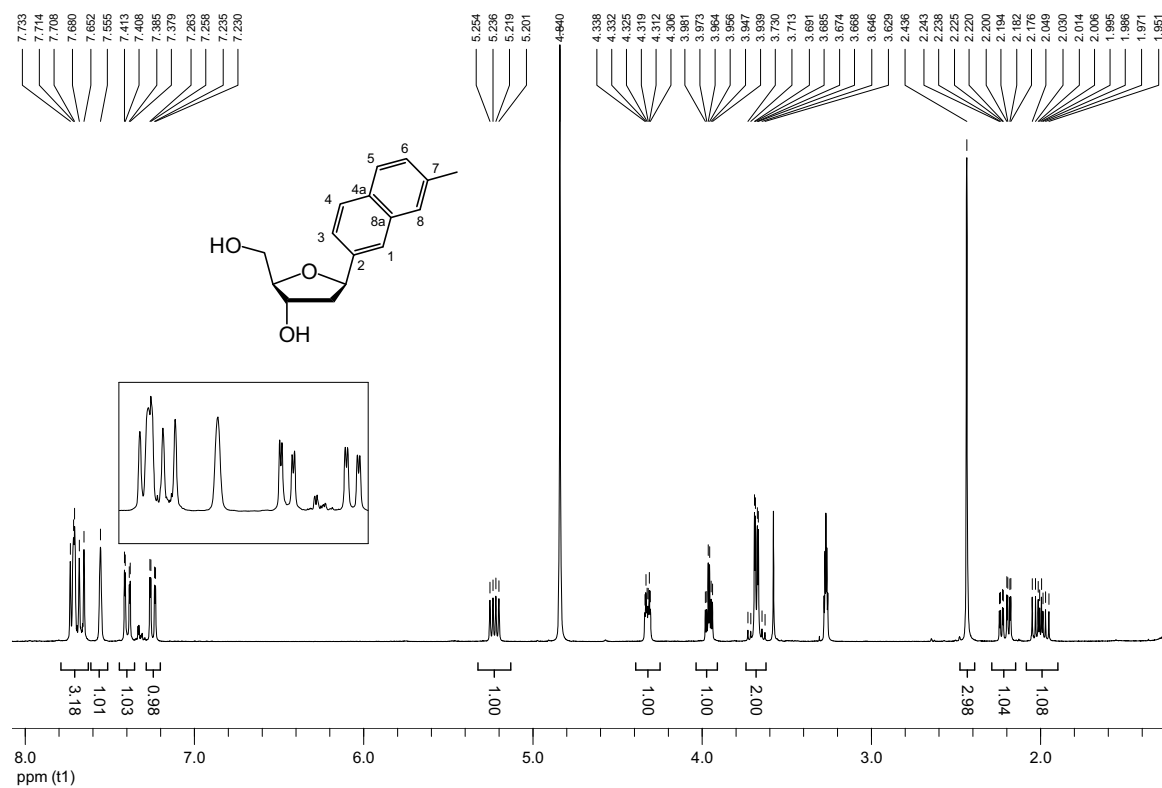
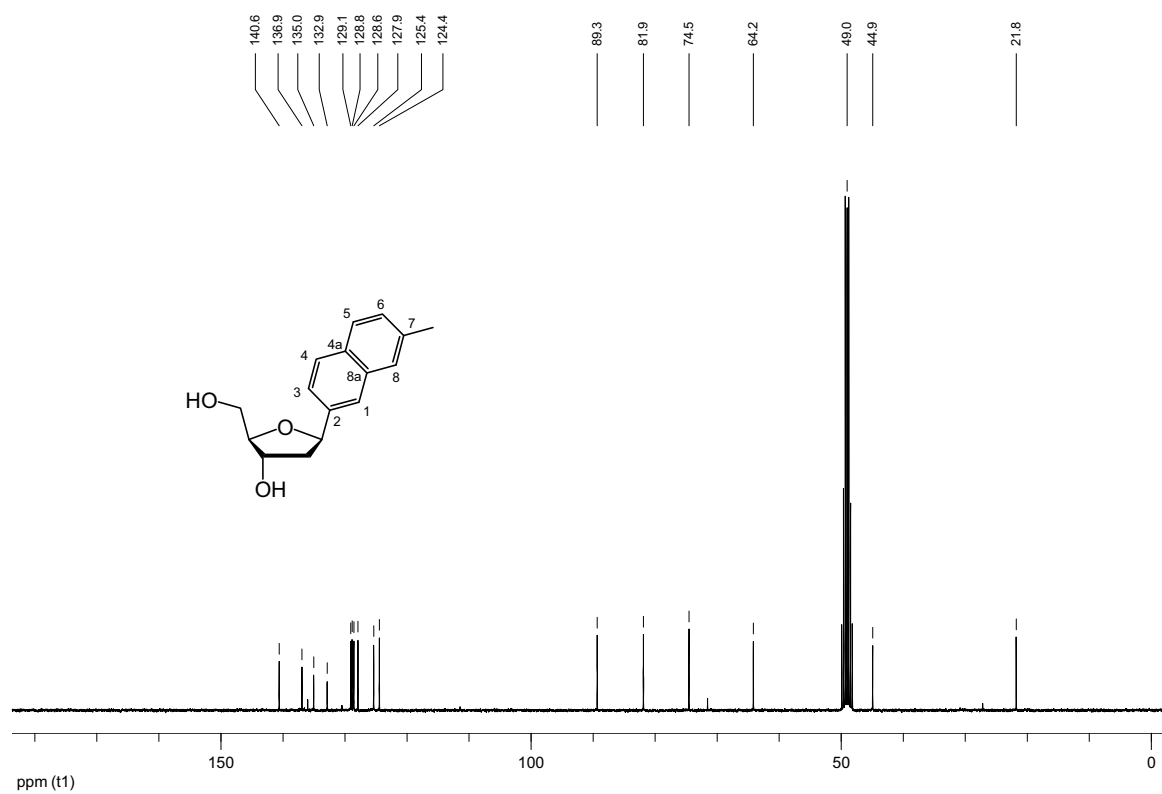
β -1',2'-Dideoxy-1'-(3-biphenyl)ribofuranose (94) $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; CDCl_3) $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz; CDCl_3)

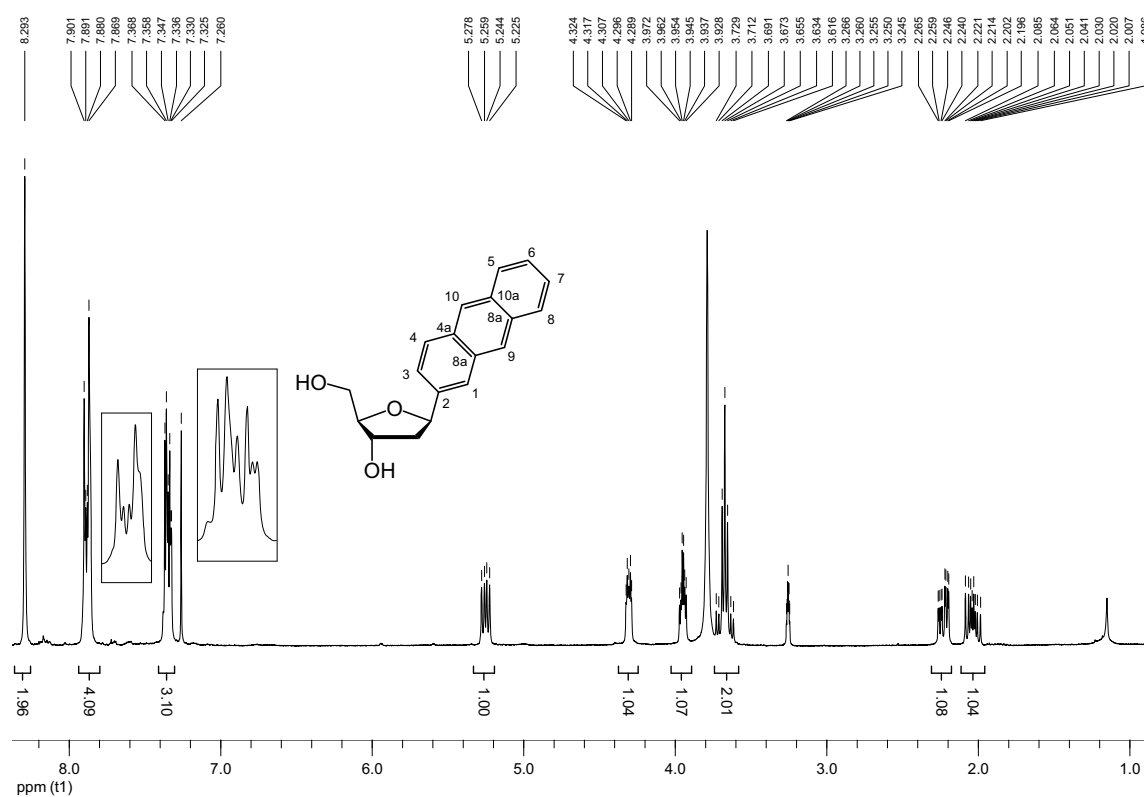
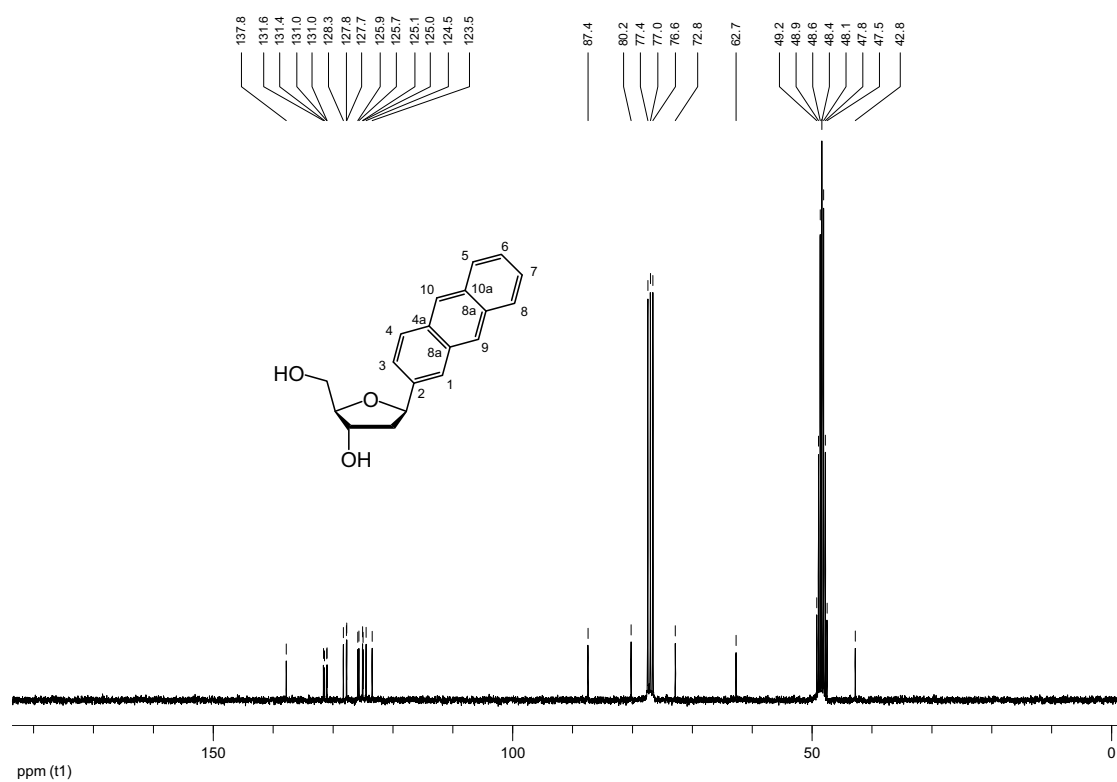
β -1',2'-Dideoxy-1'-(1-phenanthrenyl)ribofuranose (82)¹H-NMR (300 MHz; DMSO-d₆)¹³C-NMR (75.5 MHz; DMSO-d₆)

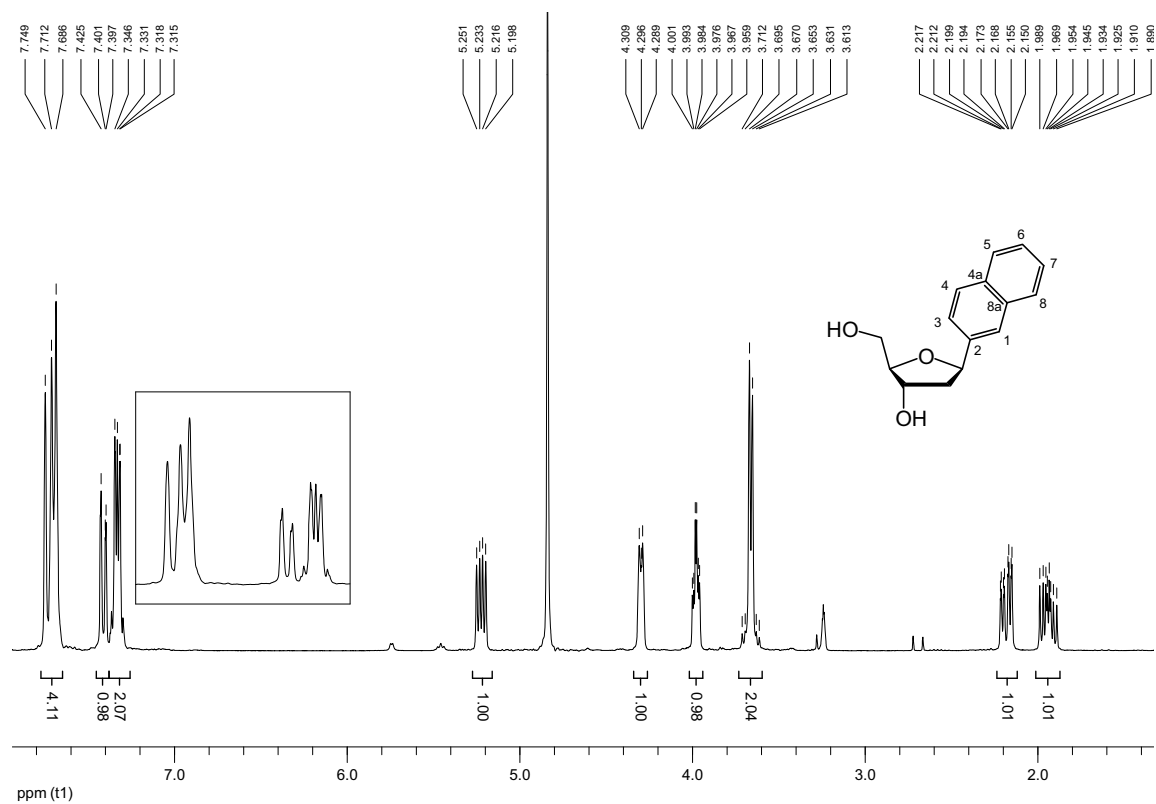
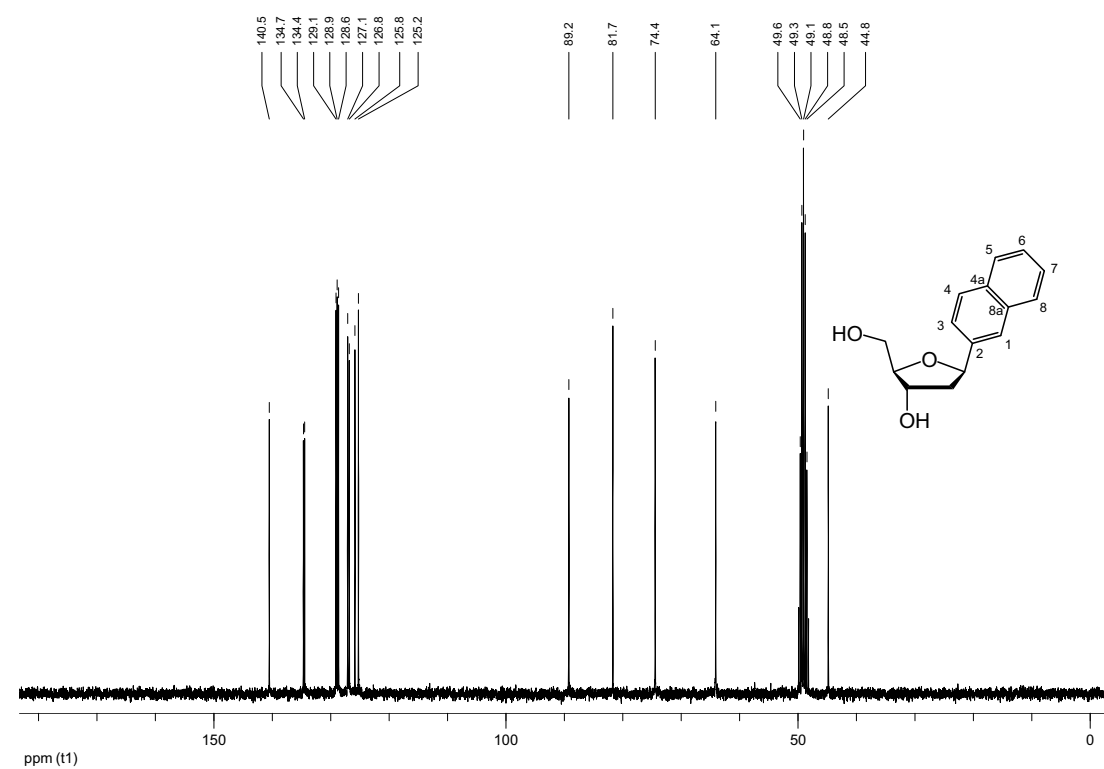
β -1',2'-Dideoxy-1'-(3-phenanthrenyl)ribofuranose (87)¹H-NMR (300 MHz; MeOH-d₄)¹³C-NMR (75.5 MHz; MeOH-d₄)

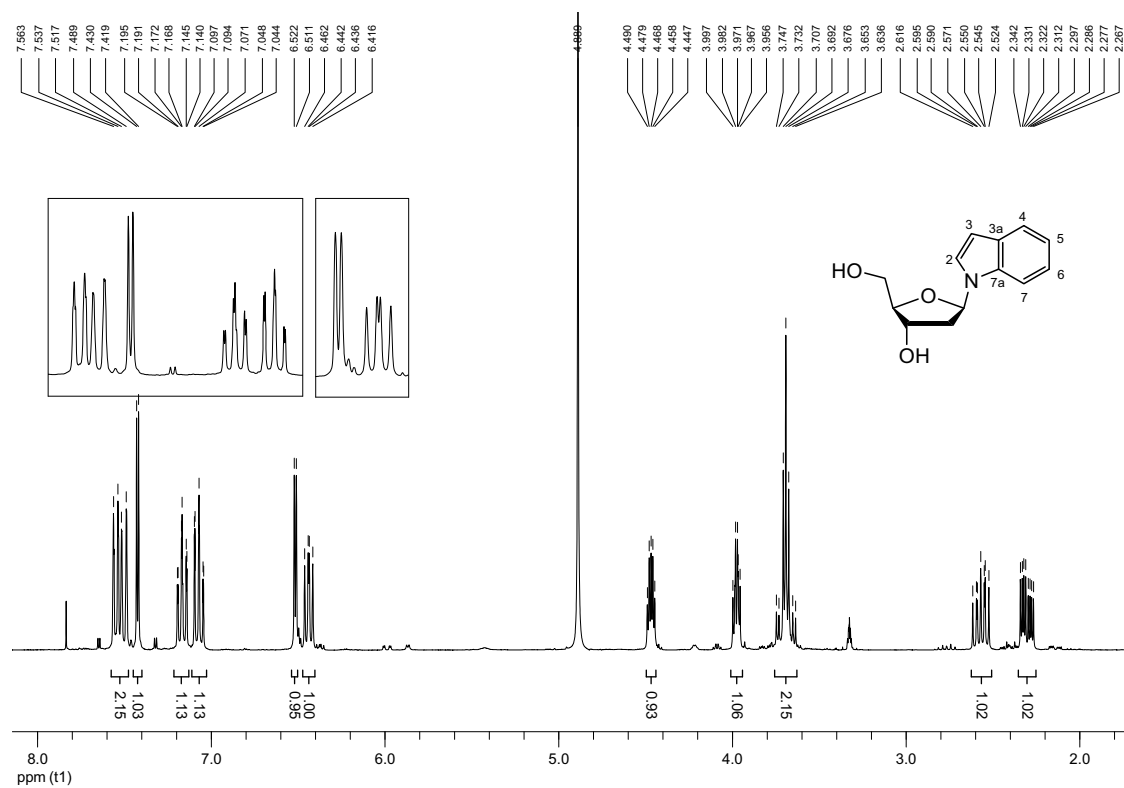
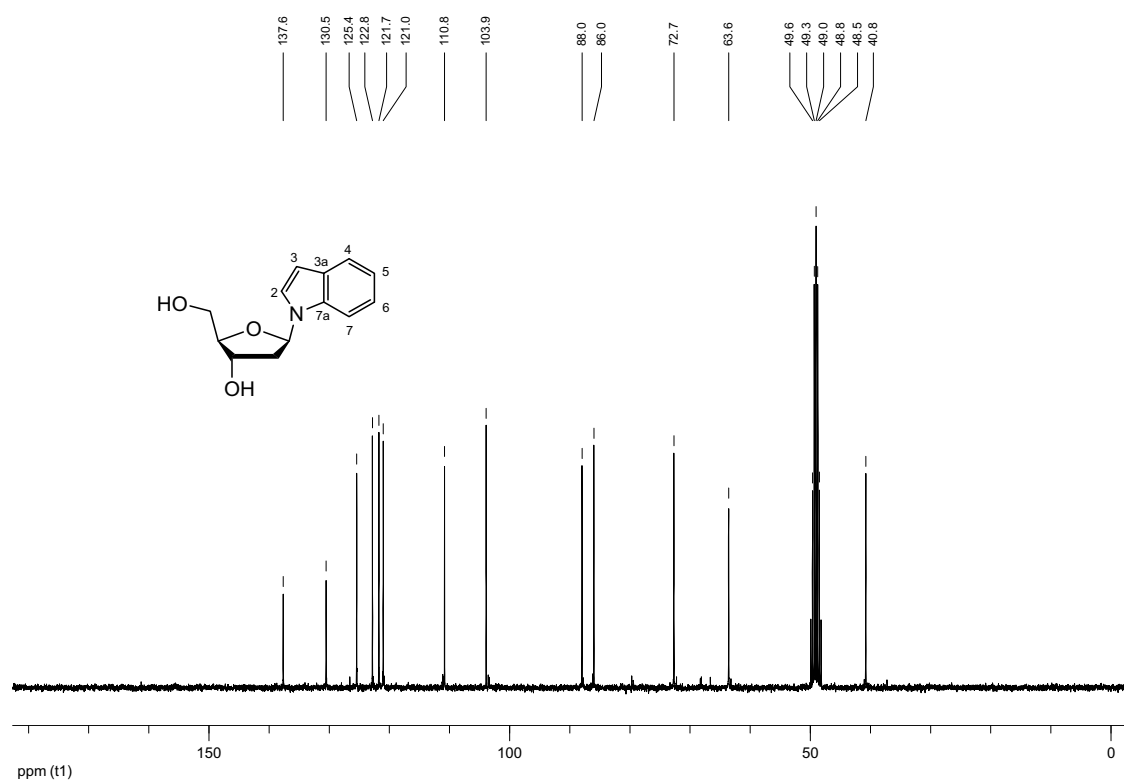
β -1'',2''-Dideoxy-1''-(*R,S*-[1,1']binaphthylen-4-yl)ribofuranose (84)¹H-NMR (300 MHz; Methanol-d₄)¹³C-NMR (75.5 MHz; Methanol-d₄)

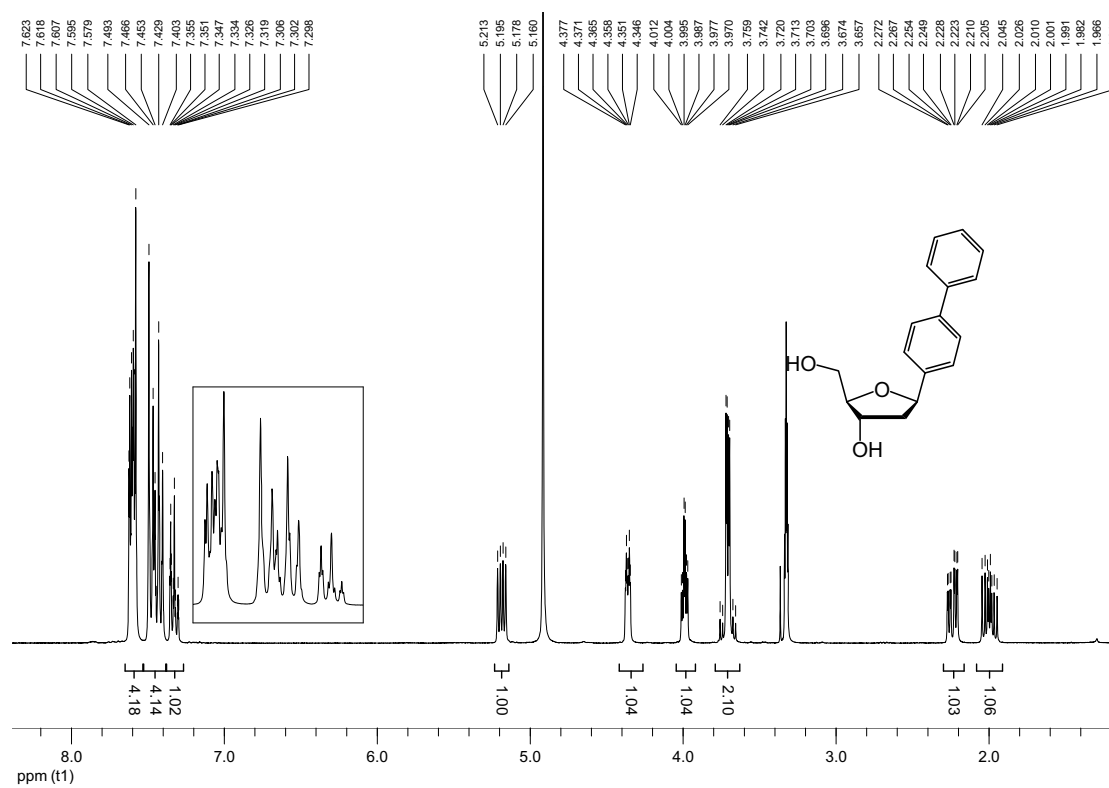
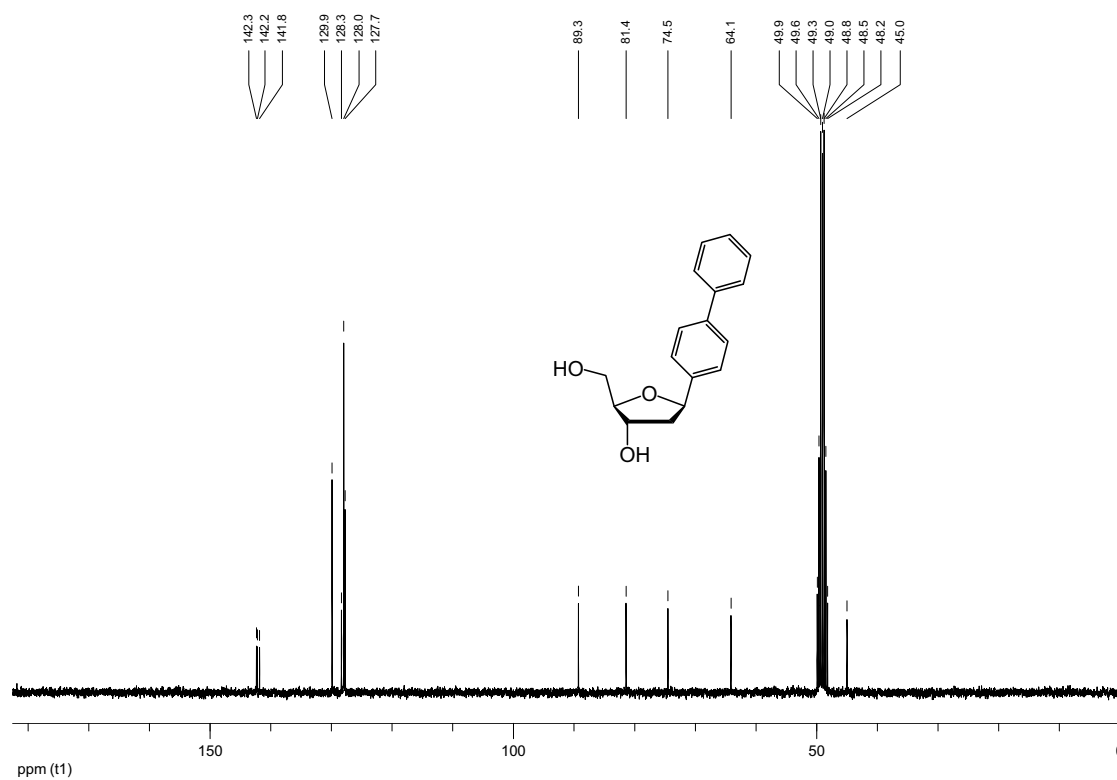
β -1',2'-Dideoxy-1'-(2-(7-phenyl)naphthyl)ribofuranose (88)¹H-NMR (300 MHz; MeOH-d₄)¹³C-NMR (75.5 MHz; MeOH-d₄)

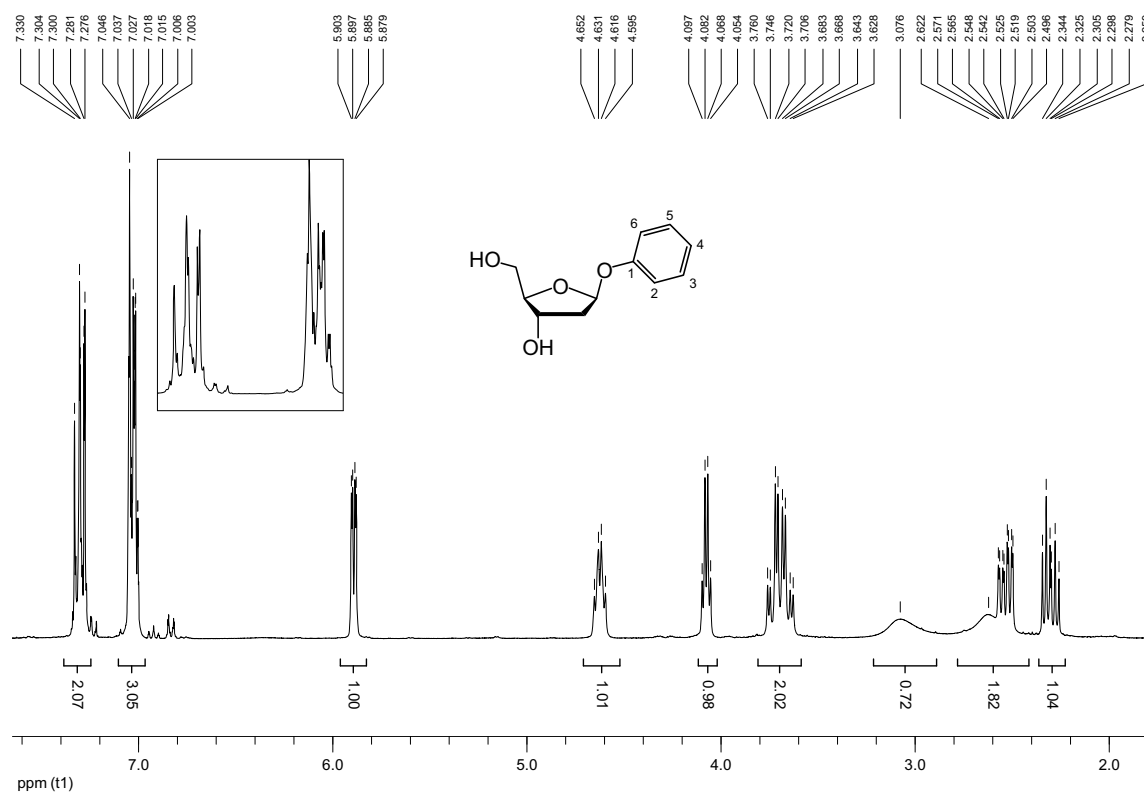
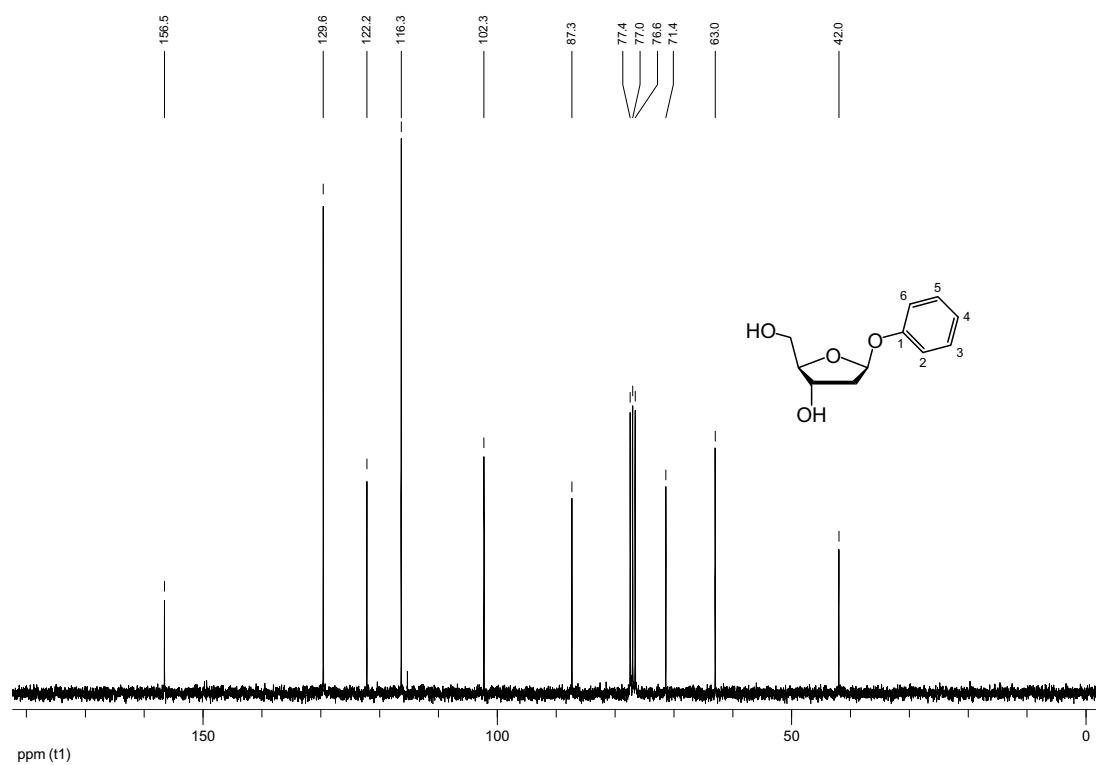
β -1',2'-Dideoxy-1'-(2-(7-phenyl)naphthyl)ribofuranose (89) $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; Methanol- d_4) $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz; Methanol- d_4)

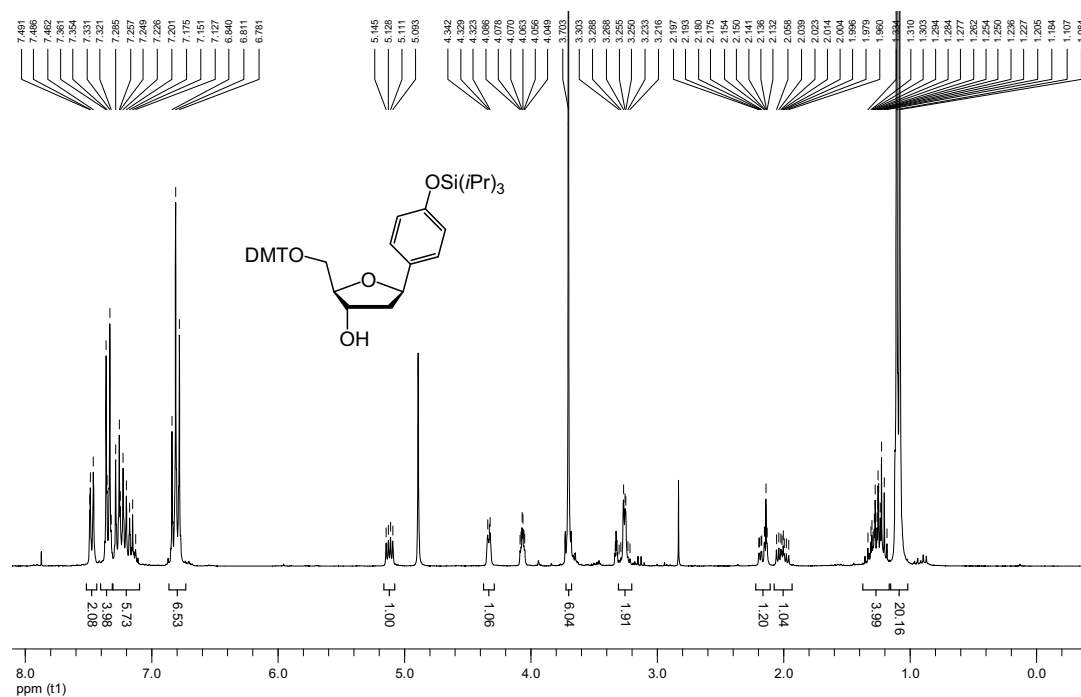
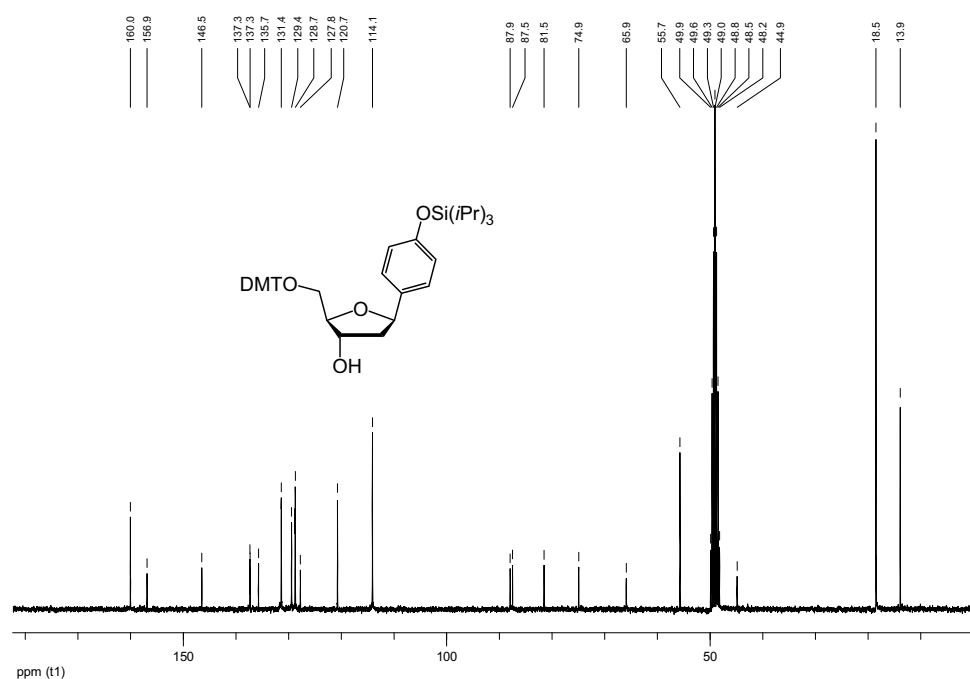
β -1',2'-Dideoxy-1'-(2-anthracenyl)ribofuranose (90) $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; $\text{CDCl}_3/\text{MeOH}=6:1$) $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz; $\text{CDCl}_3/\text{MeOH}=6:1$)

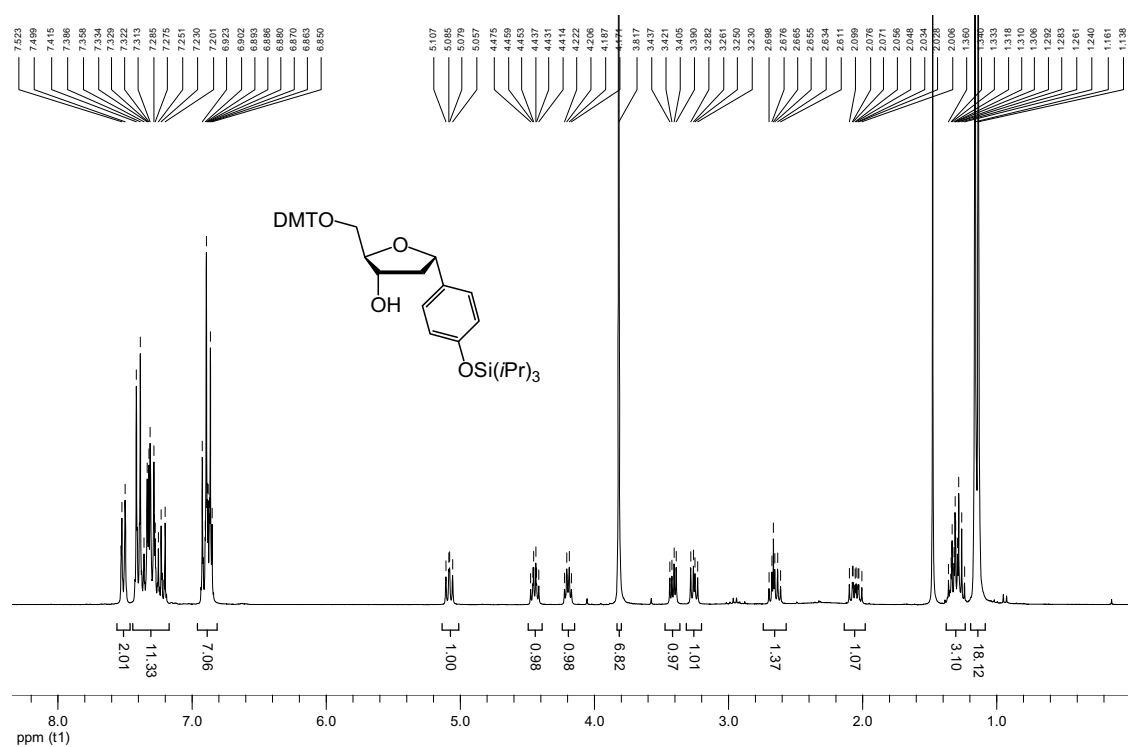
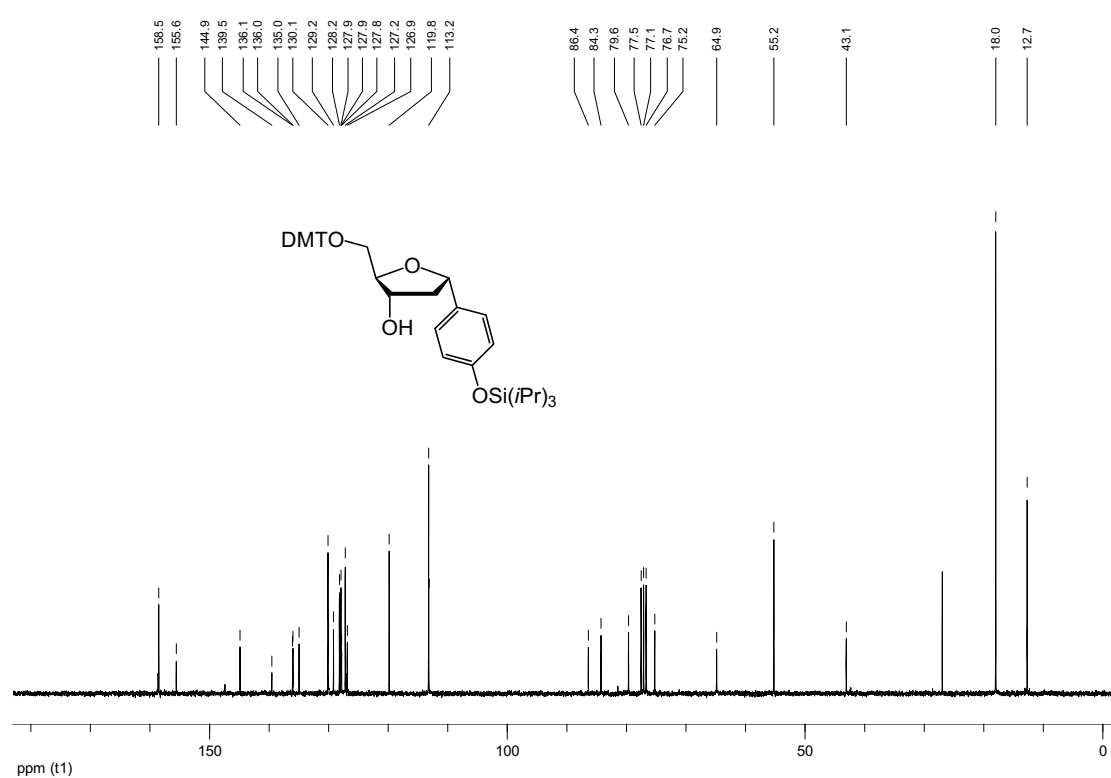
β -1',2'-Dideoxy-1'-(2-naphthyl)ribofuranose (91) $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; CDCl_3) $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz; CDCl_3)

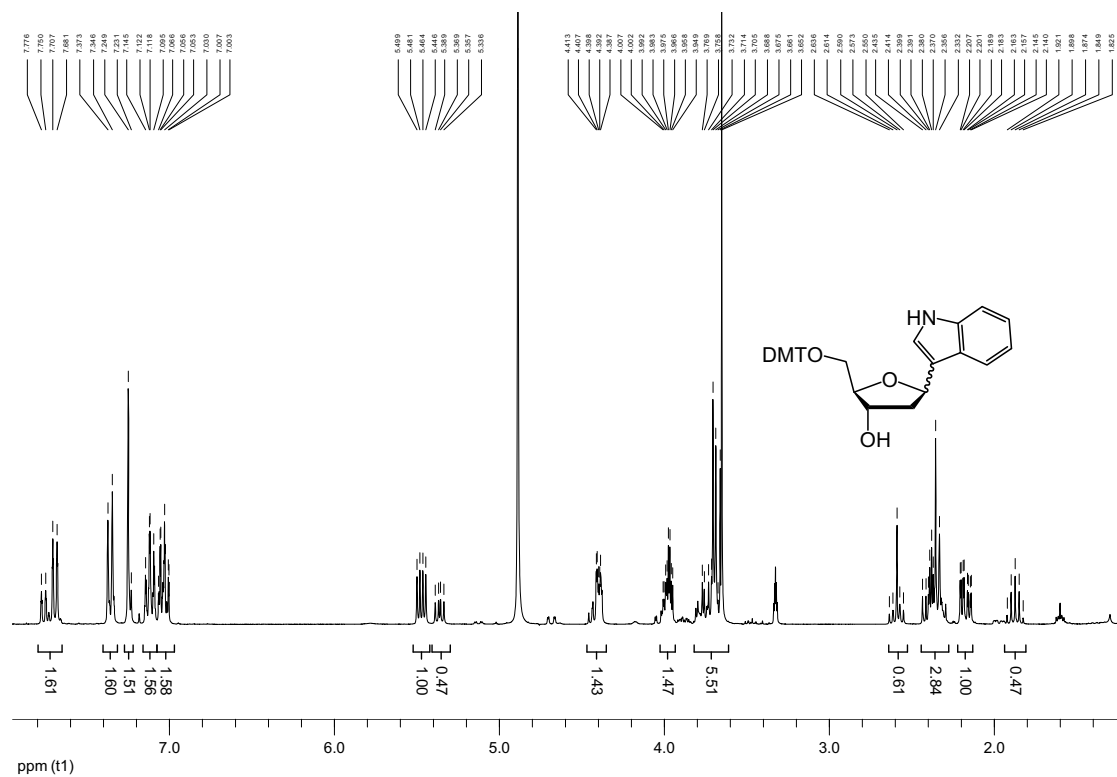
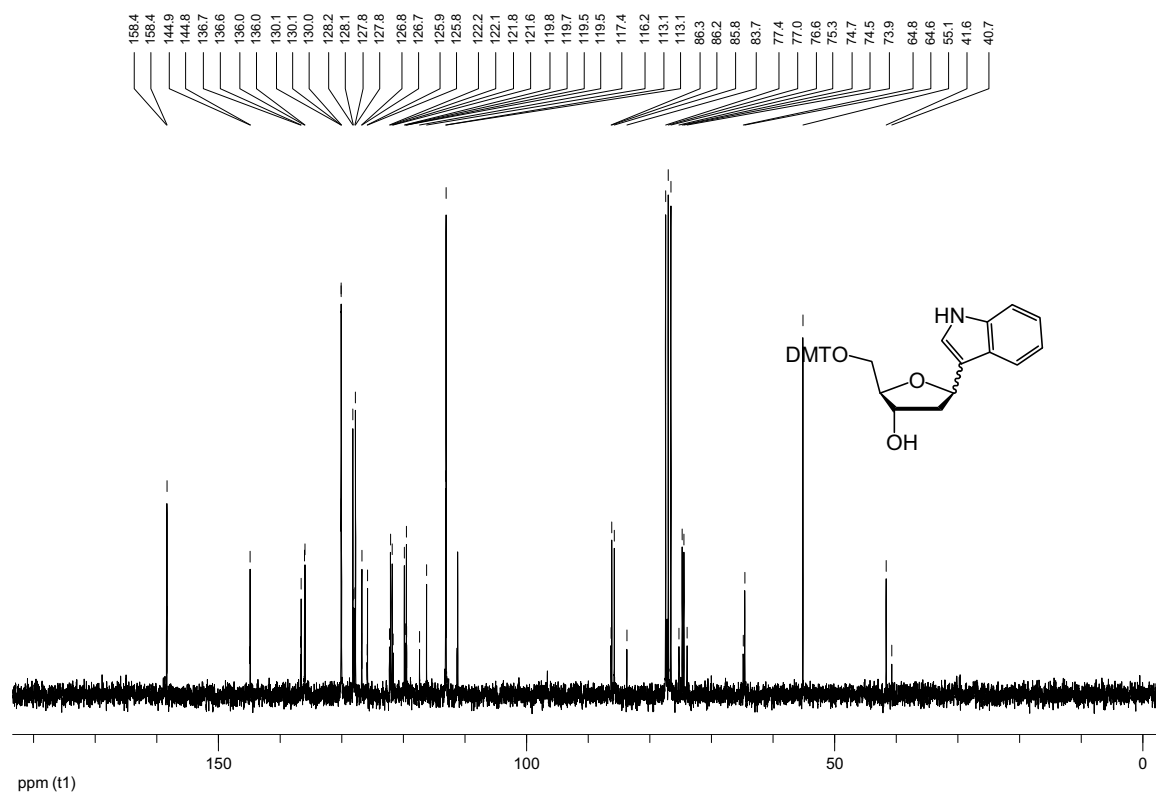
β -1',2'-Dideoxy-1'-(1-indolyl)ribofuranose (98)¹H-NMR (300 MHz; Methanol-d₄)¹³C-NMR (75.5 MHz; Methanol-d₄)

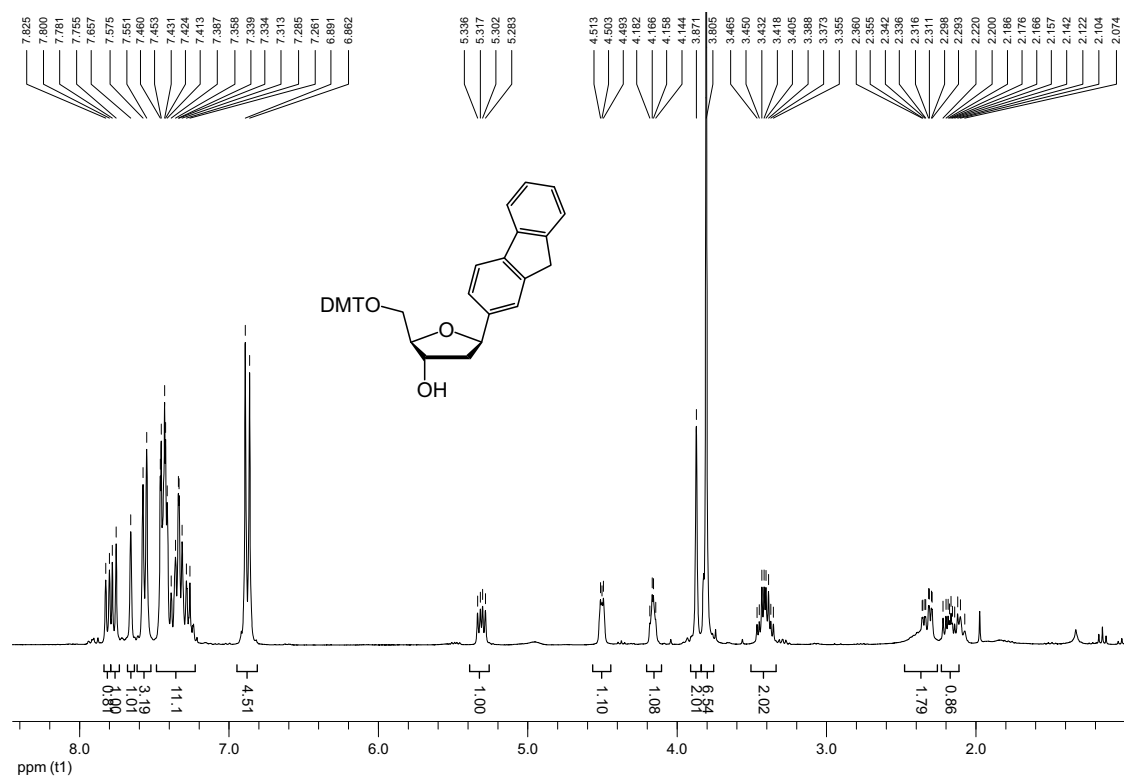
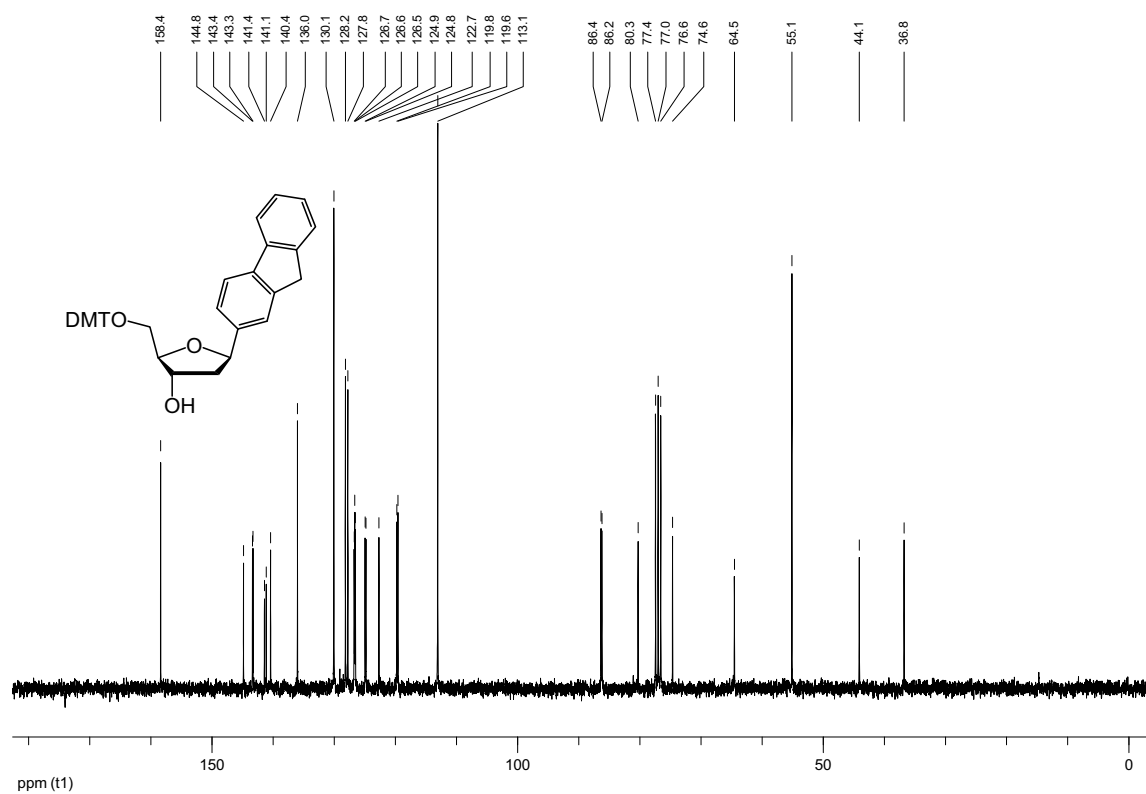
β -1',2'-Dideoxy-1'-(4-biphenyl)ribofuranose (95) ^1H -NMR (300 MHz; Methanol- d_4) ^{13}C -NMR (75.5 MHz; Methanol- d_4)

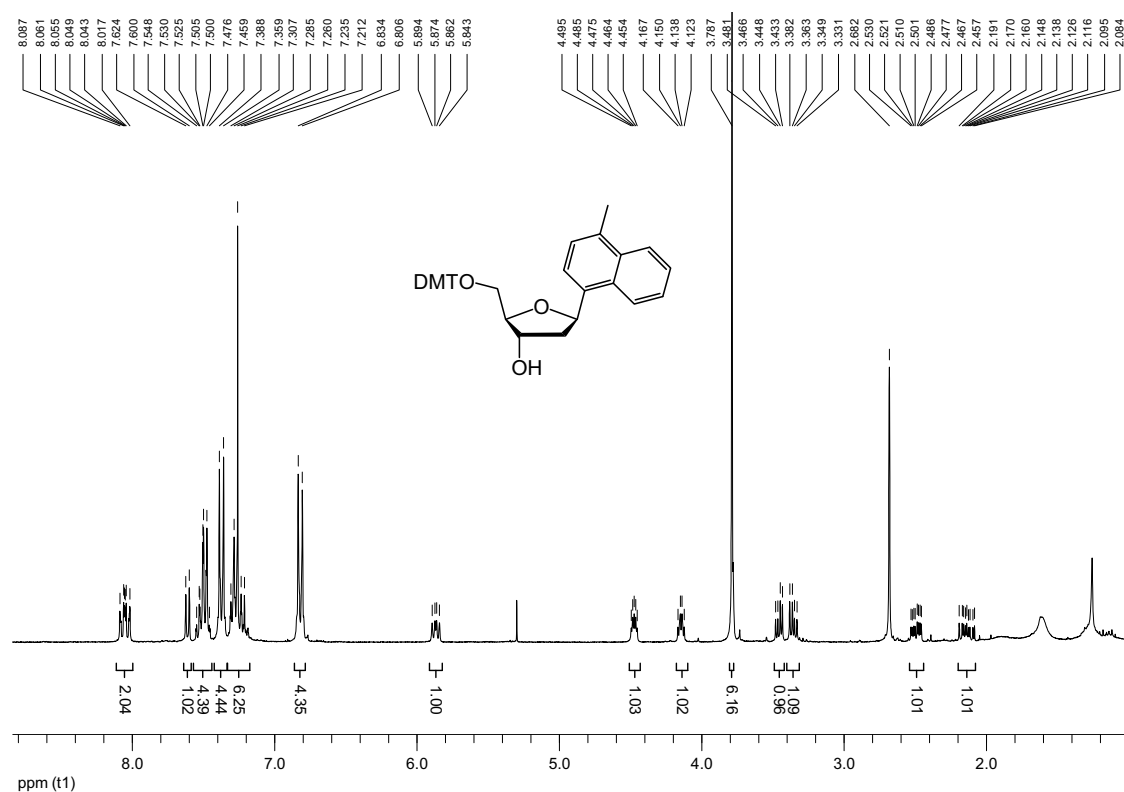
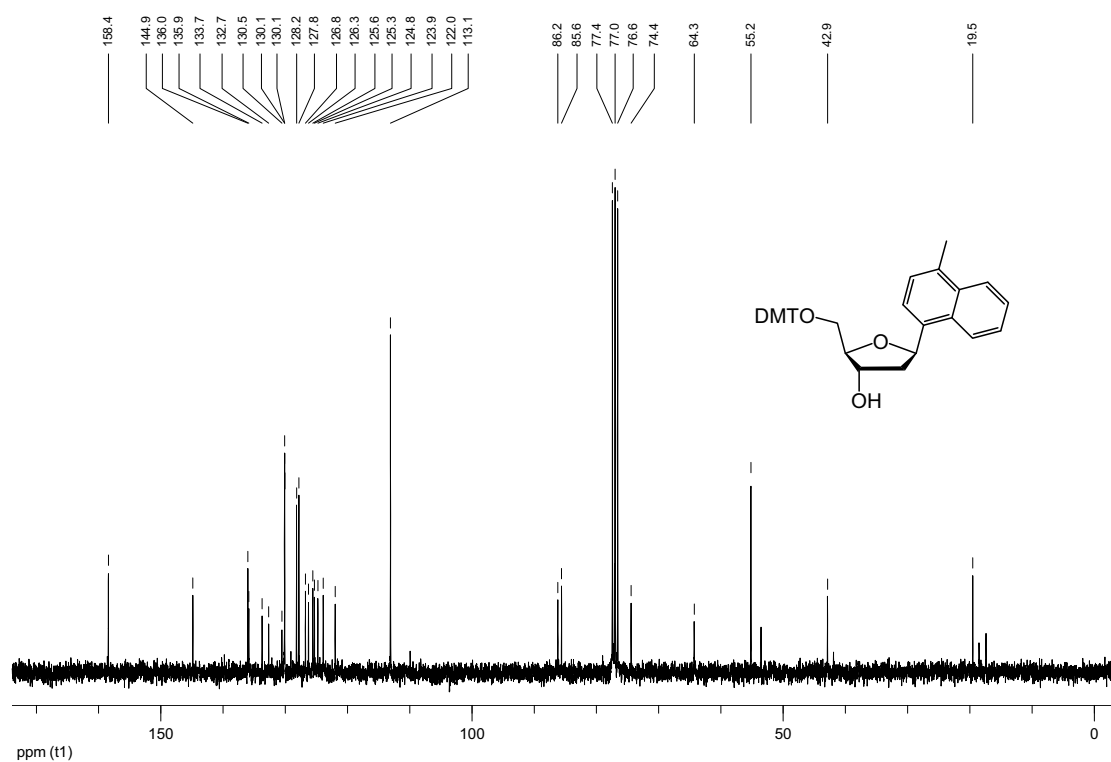
β -1',2'-Dideoxy-1'-phenyloxoribofuranose (97) $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; CDCl_3) $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz; CDCl_3)

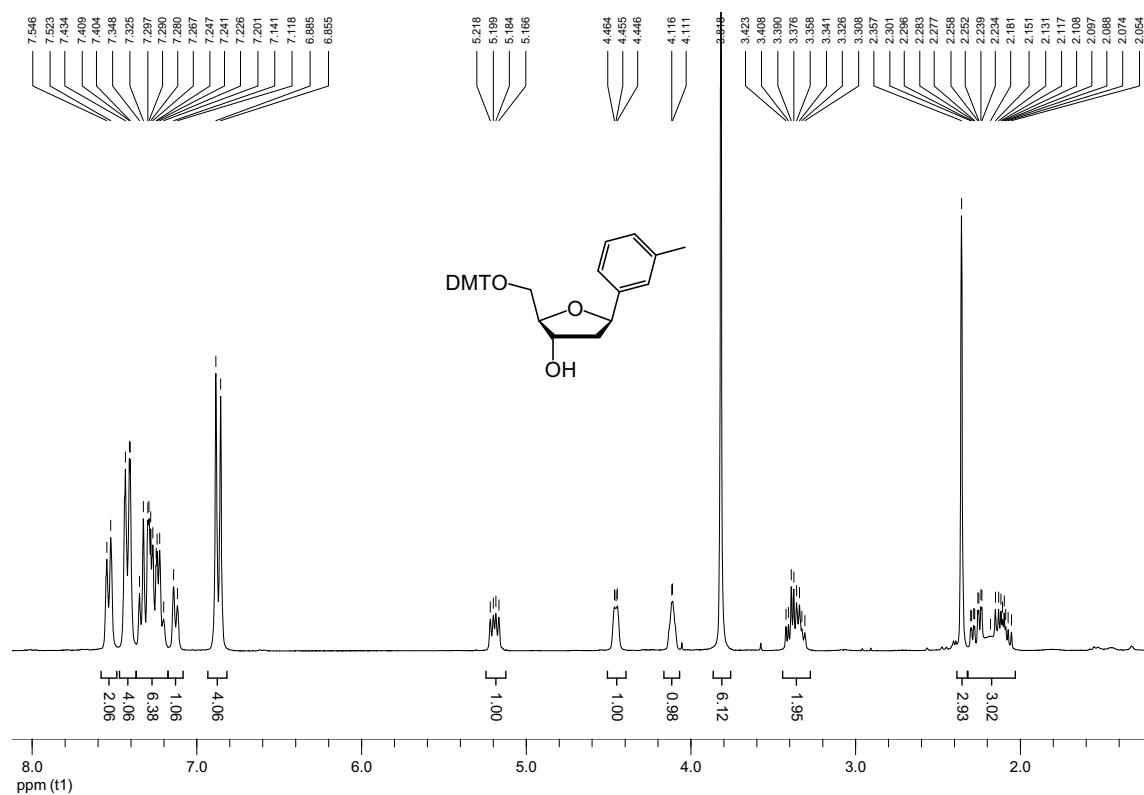
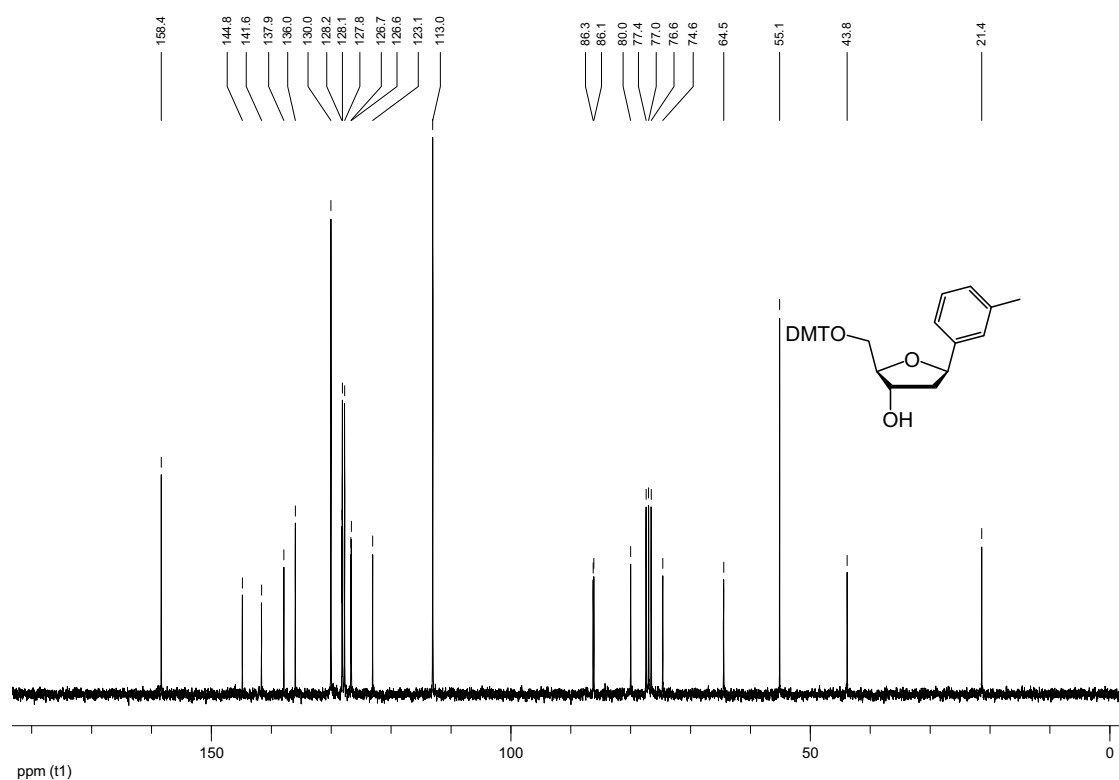
DMT-Ether**5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(4-triisopropylsilyloxyphenyl)ribofuranose 146b β** ¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)¹³C-NMR (75.5 MHz; CDCl₃)

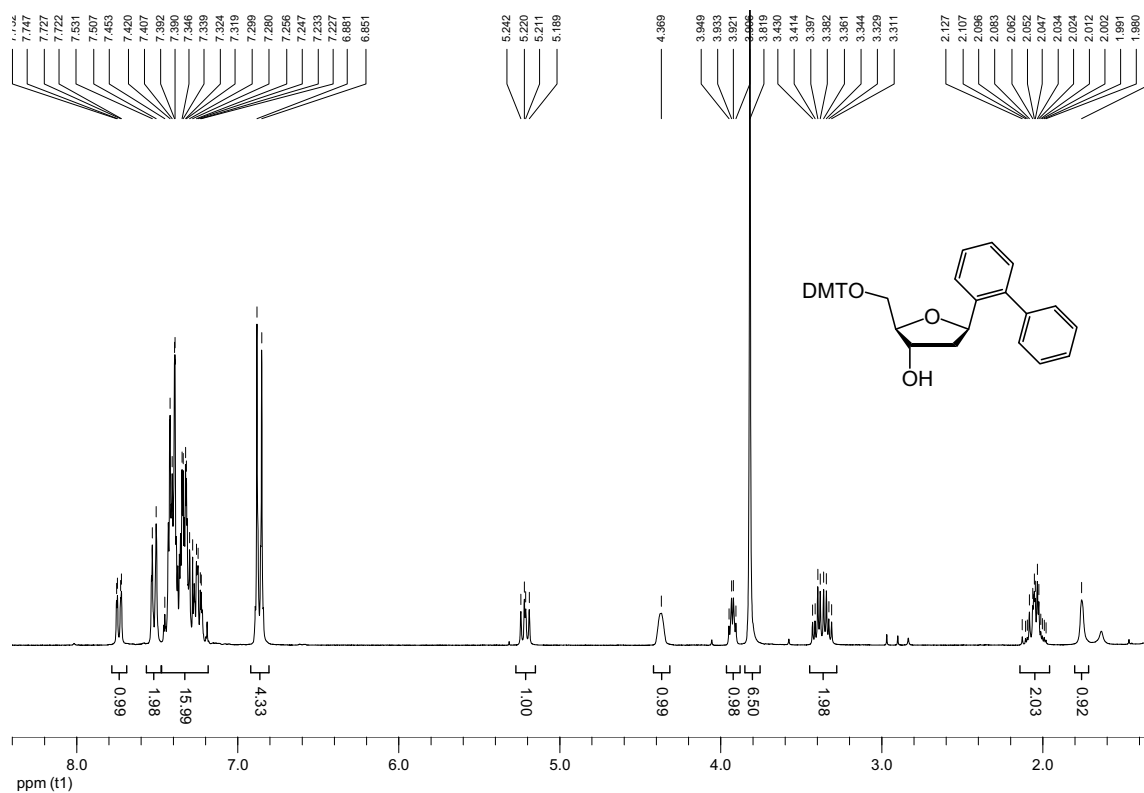
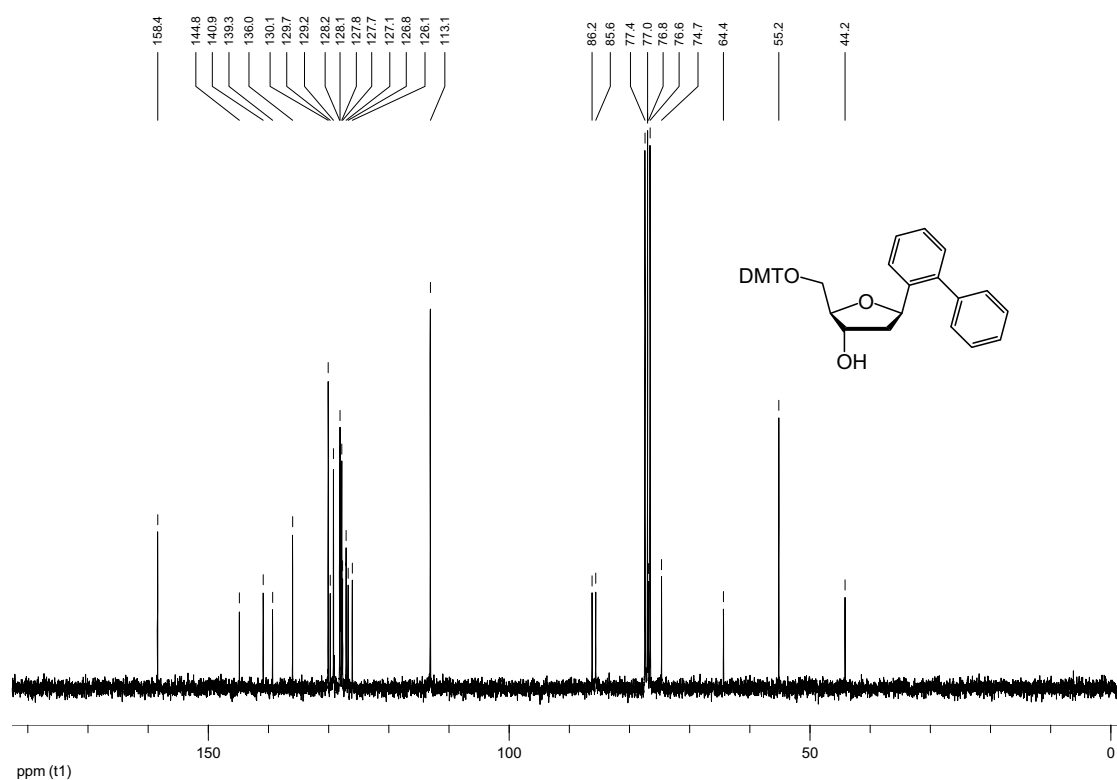
5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- α -1',2'-dideoxy-1'-(4-triisopropylsilyloxyphenyl)ribofuranose 146ba¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)¹³C-NMR (75.5 MHz; CDCl₃)

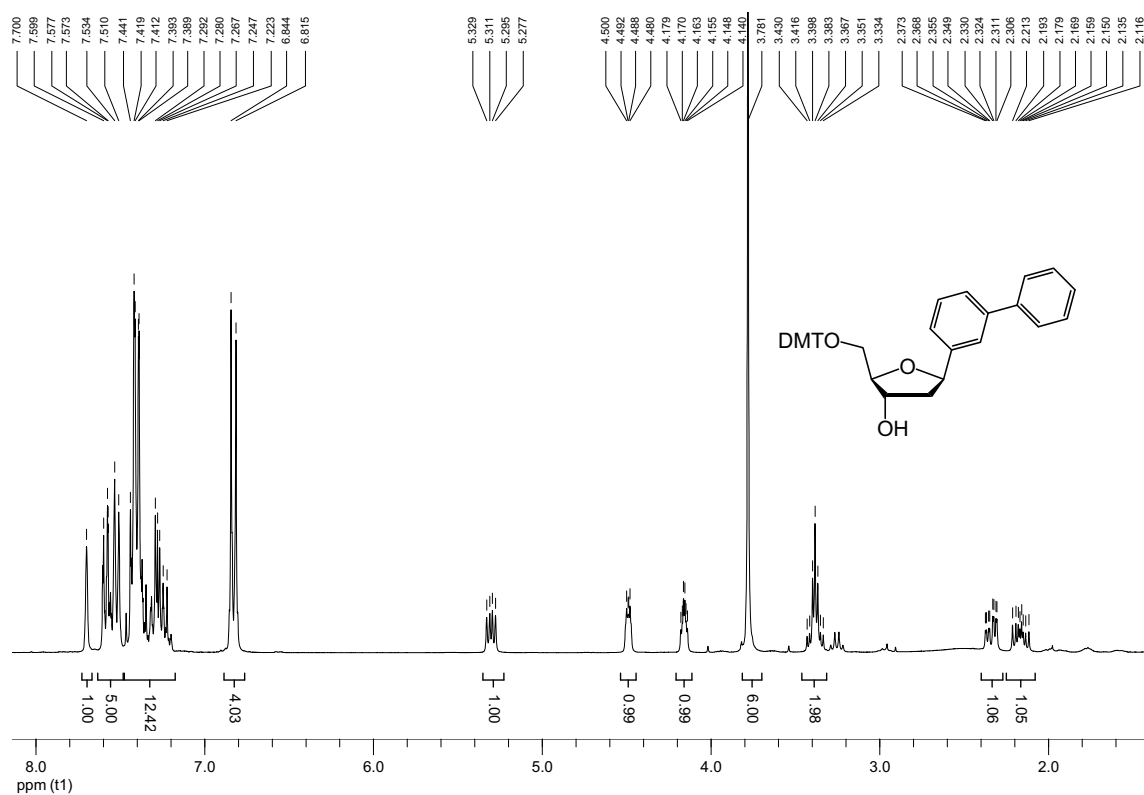
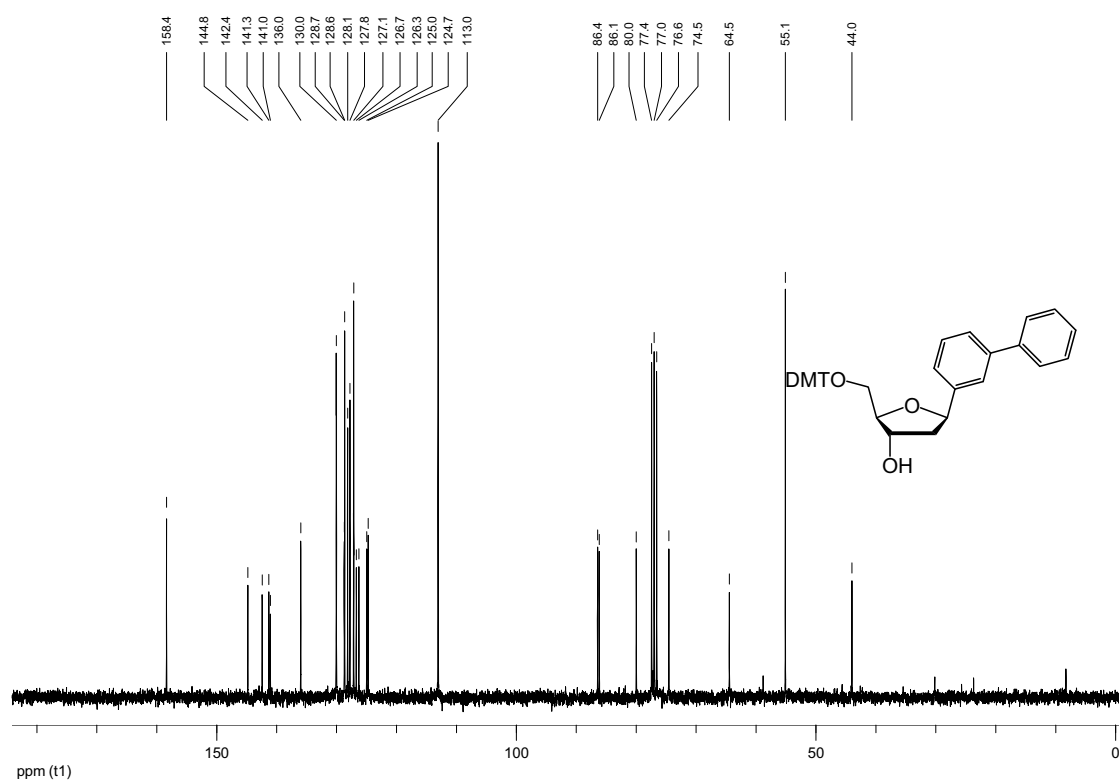
5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(3-indolyl)ribofuranose 146c $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; CDCl_3) $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz; CDCl_3)

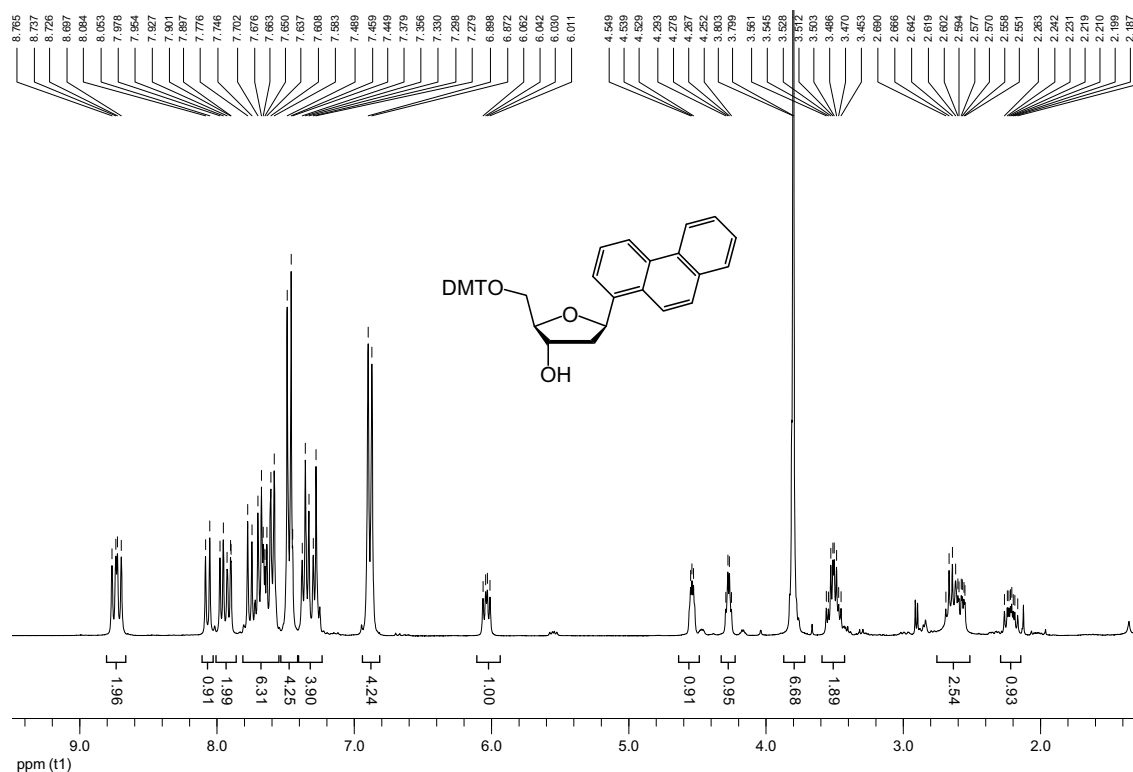
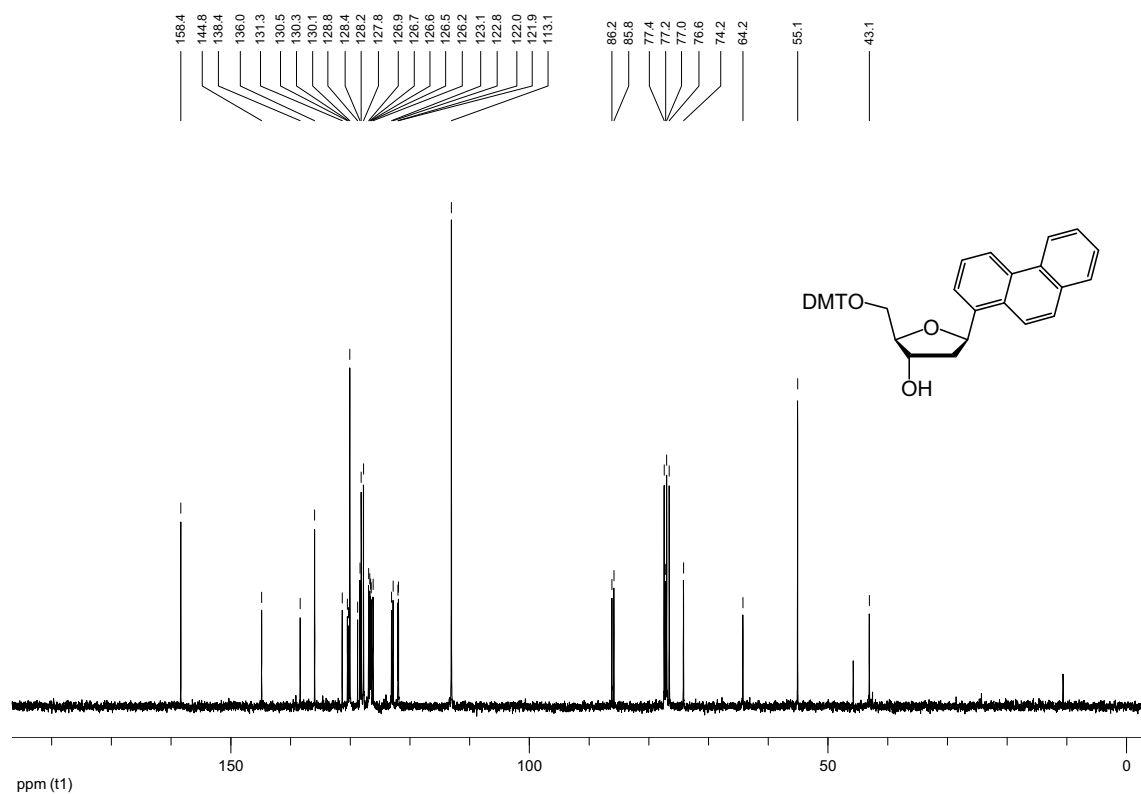
5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(2-fluorenyl)ribofuranose 146e¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)¹³C-NMR (75.5 MHz; CDCl₃)

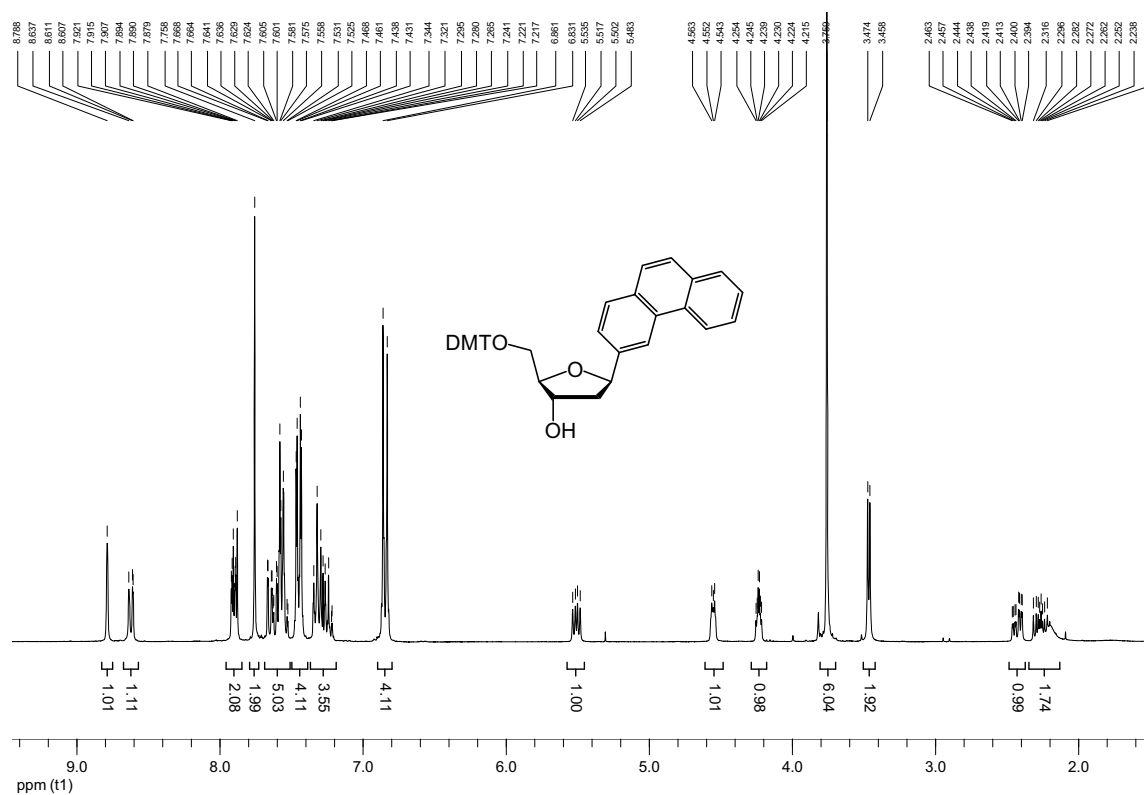
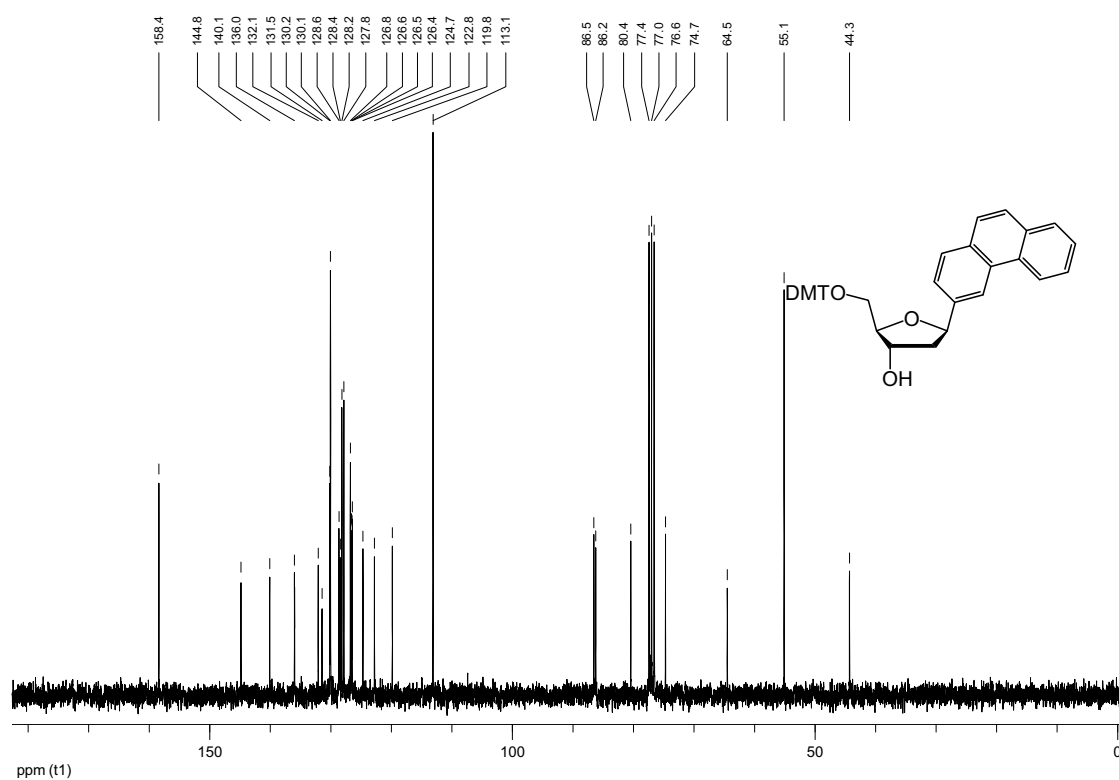
5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(1-(4-methyl)naphthyl)ribofuranose 146g $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; CDCl_3) $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz; CDCl_3)

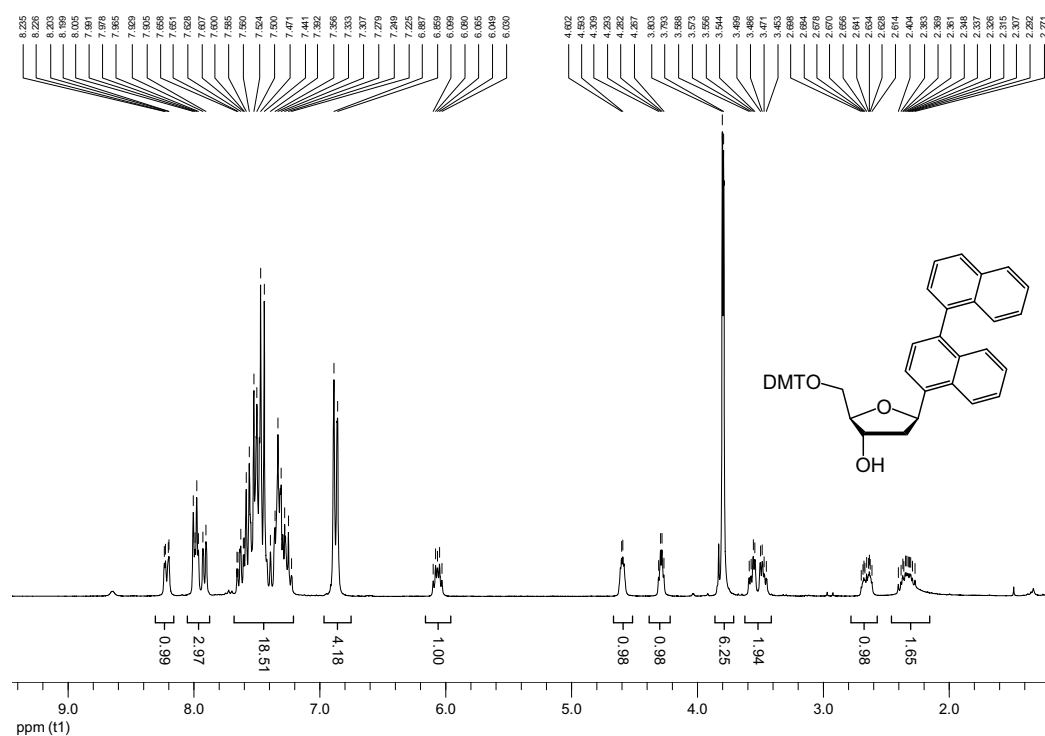
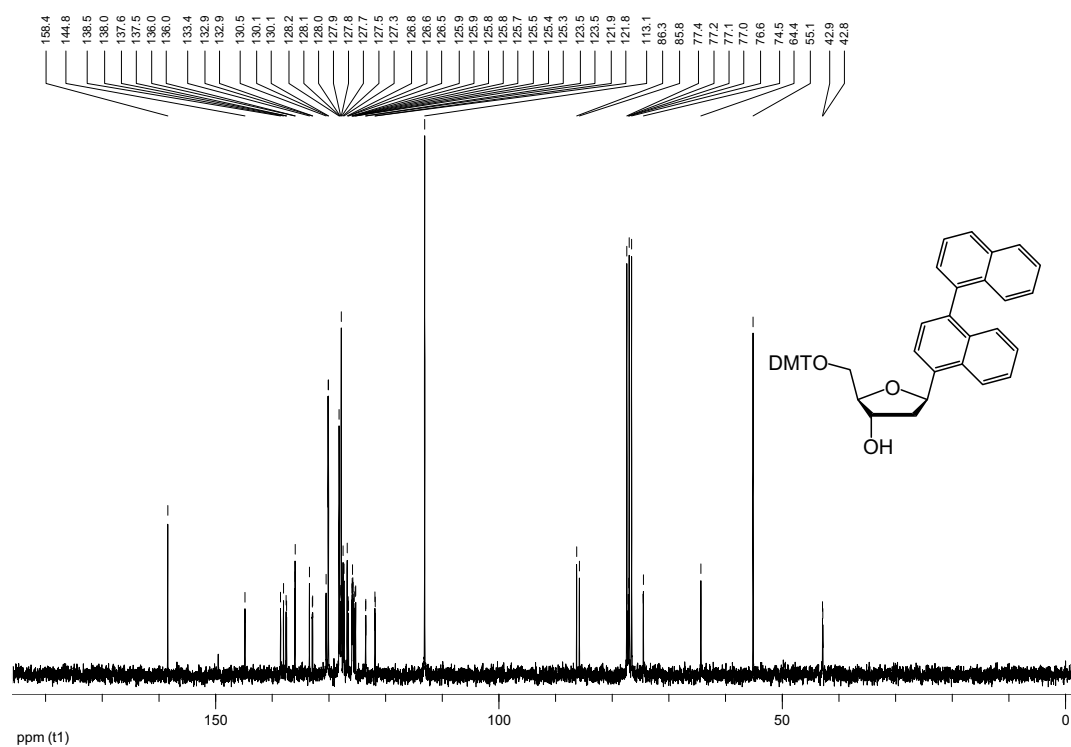
5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(3-tolyl)ribofuranose 146i $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; CDCl_3) $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz; CDCl_3)

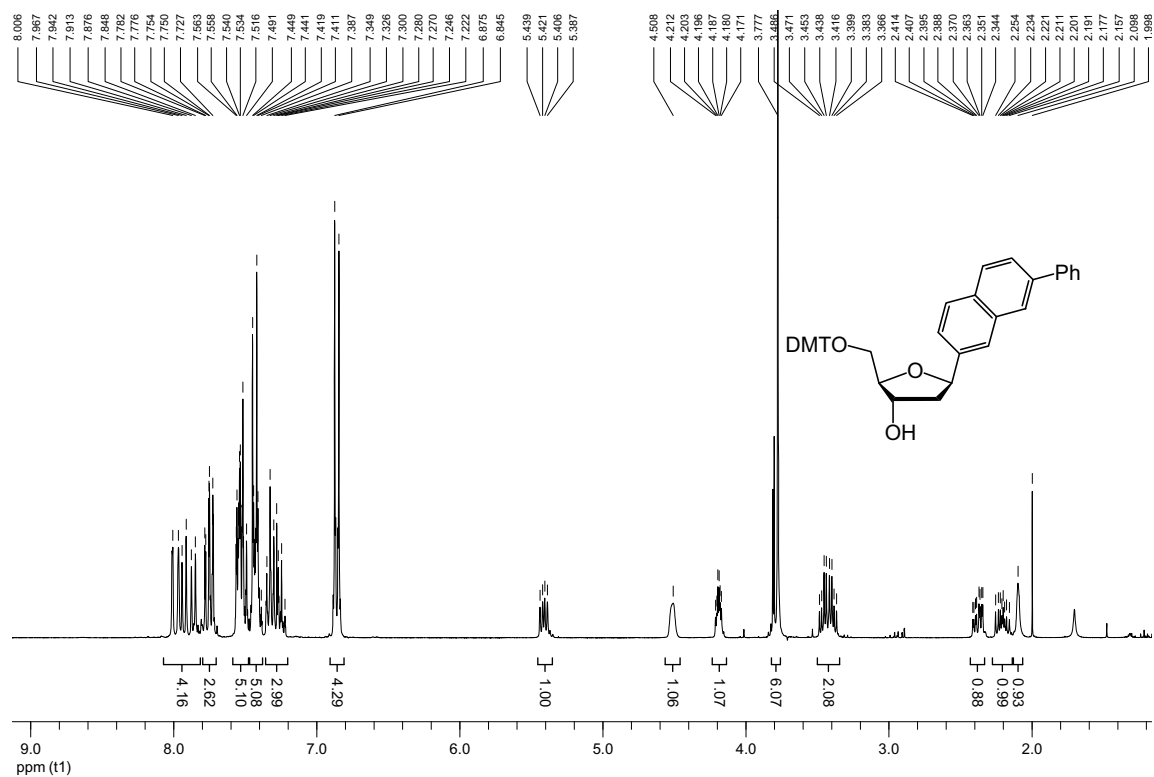
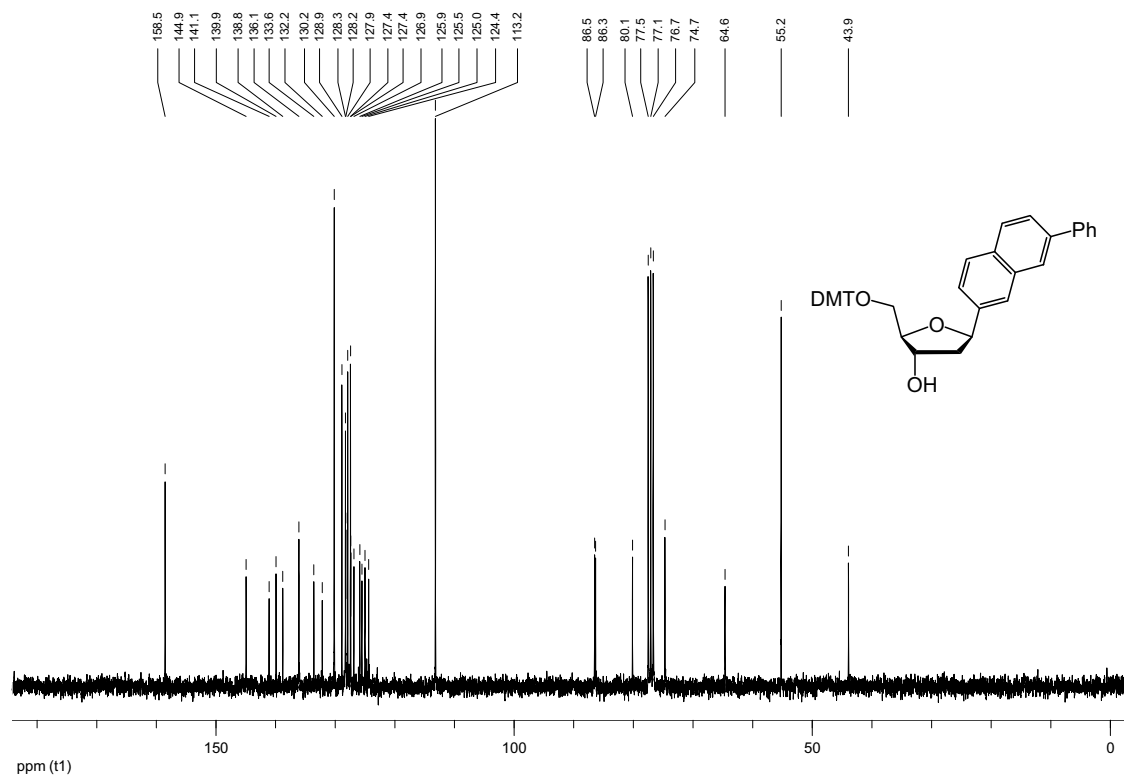
5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(2-biphenyl)ribofuranose 146j $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; CDCl_3) $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz; CDCl_3)

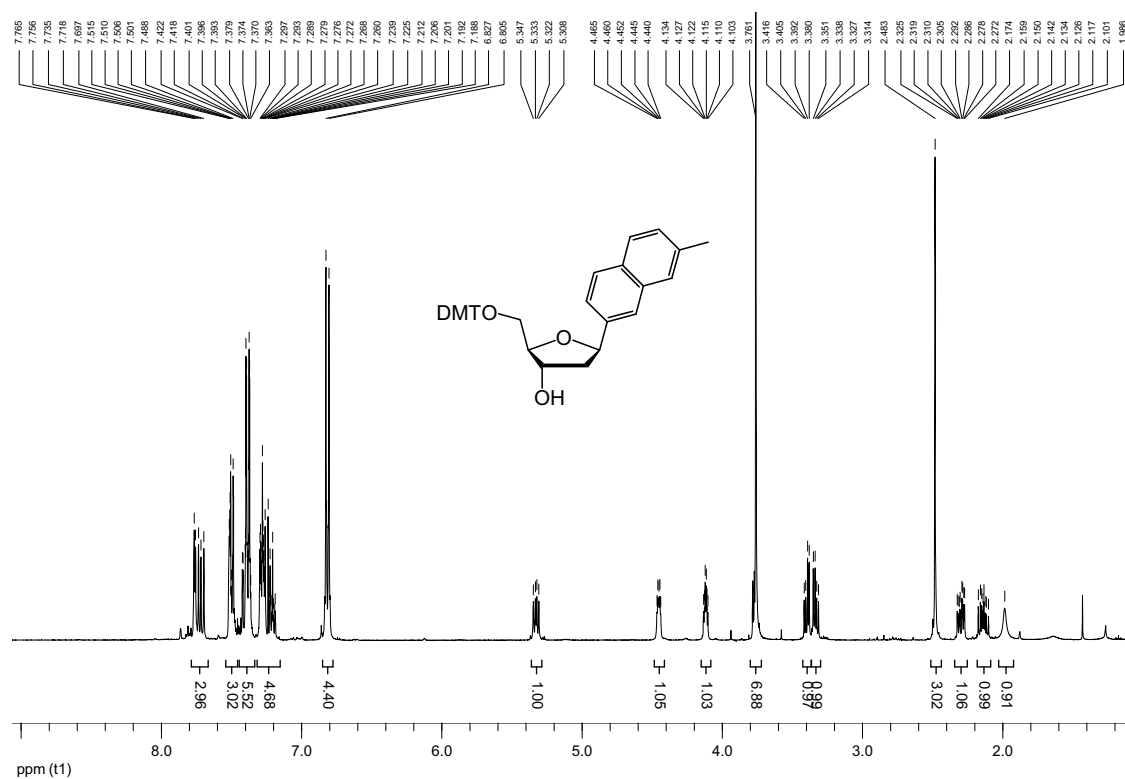
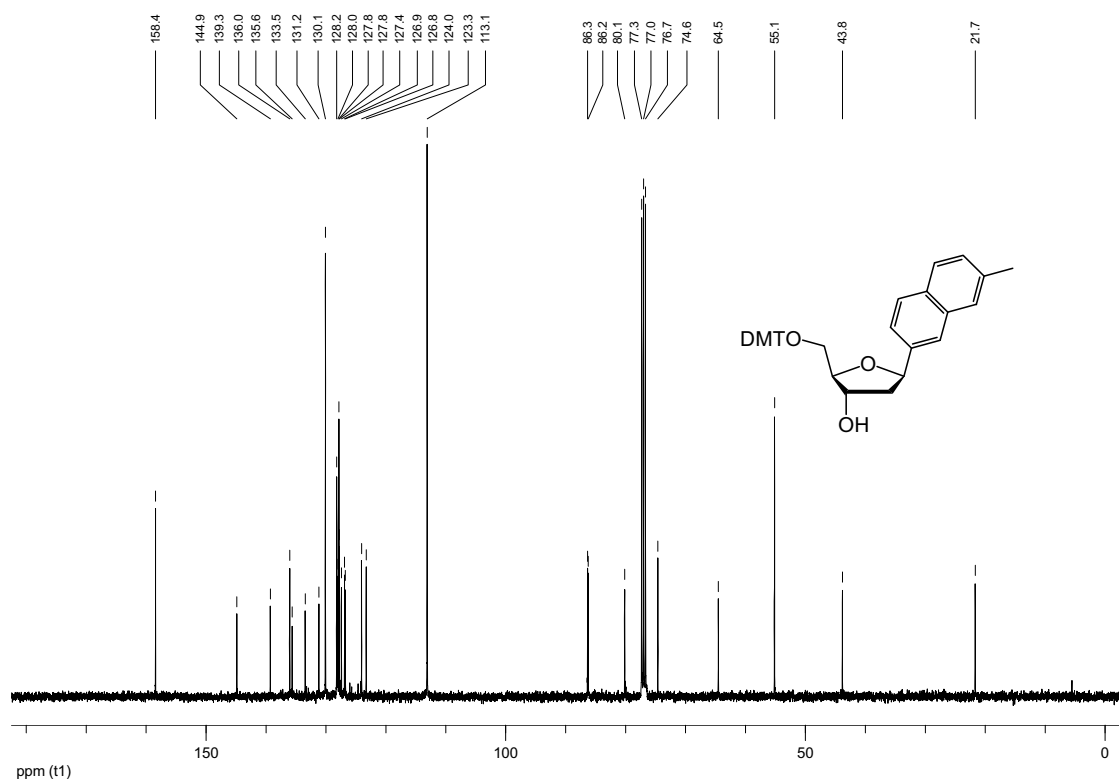
5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(3-biphenyl)ribofuranose 146k $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; CDCl_3) $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz; CDCl_3)

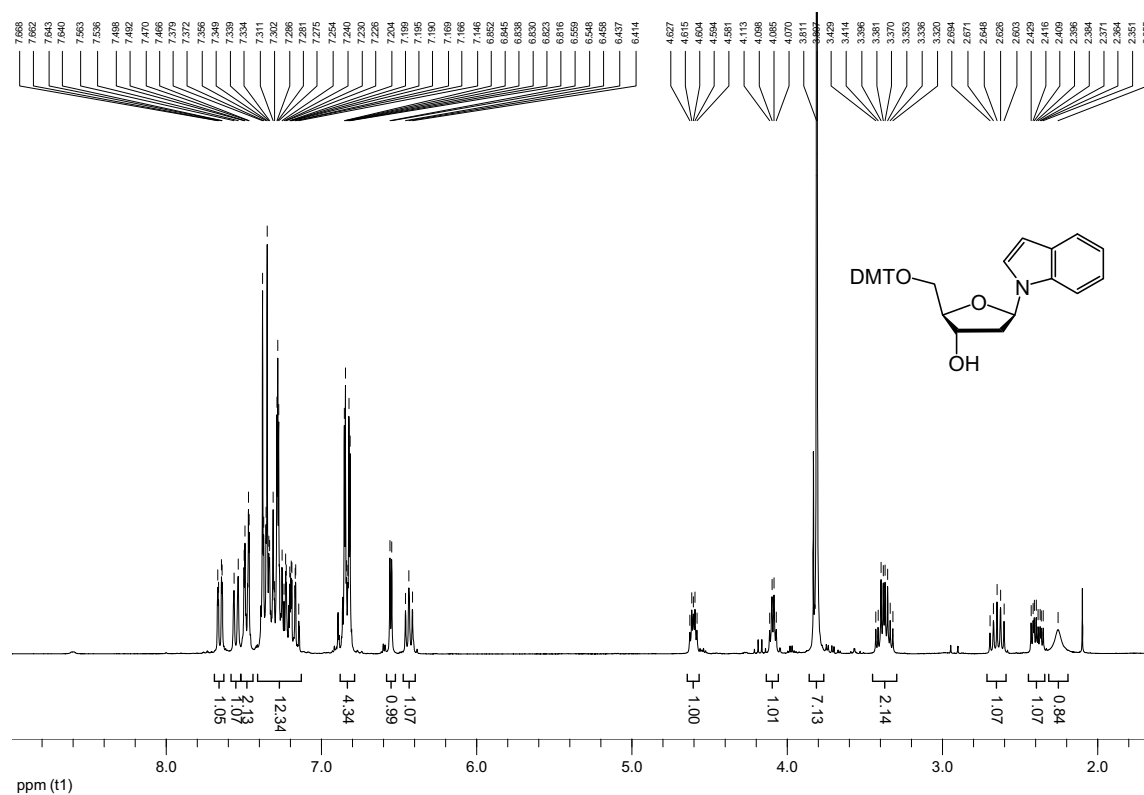
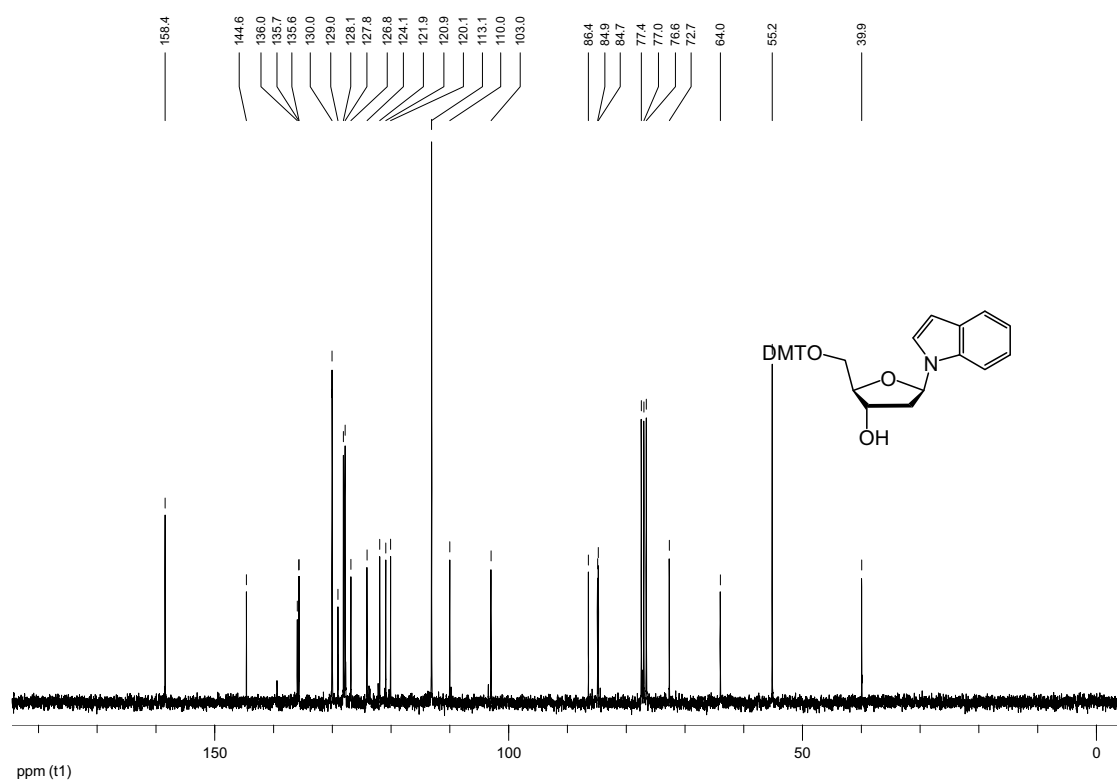
5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(1-phenanthrenyl)ribofuranose 146l $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; CDCl_3) $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz; CDCl_3)

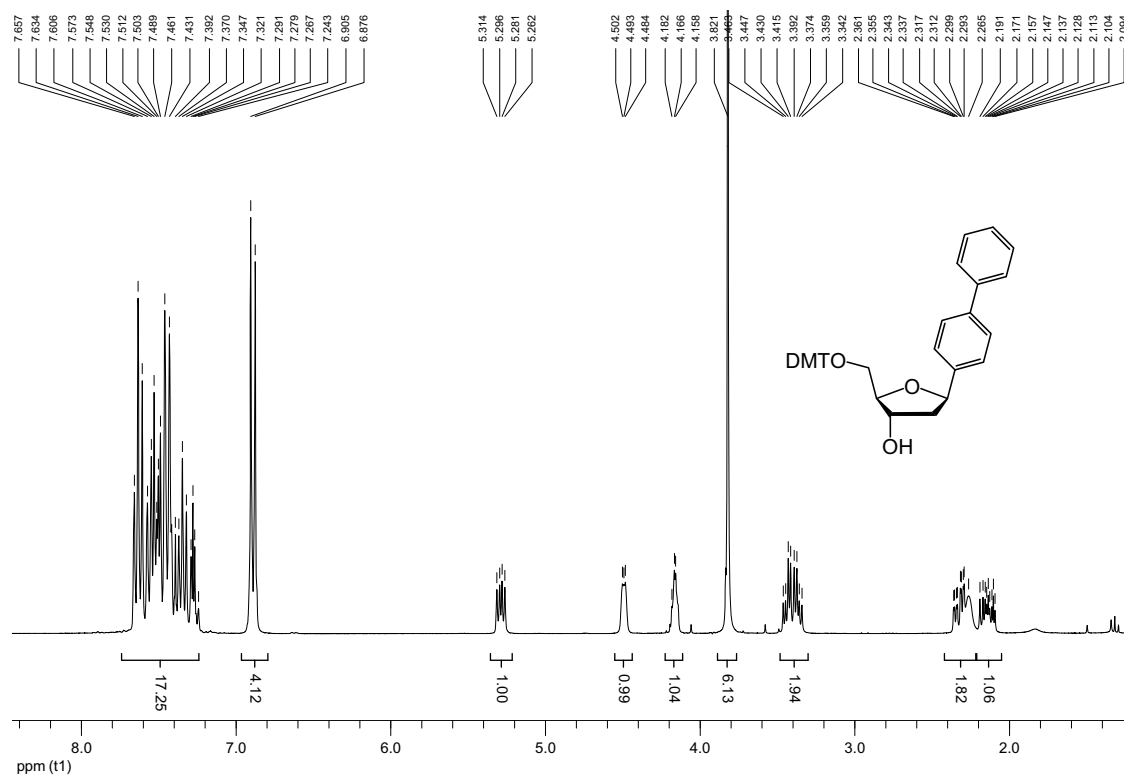
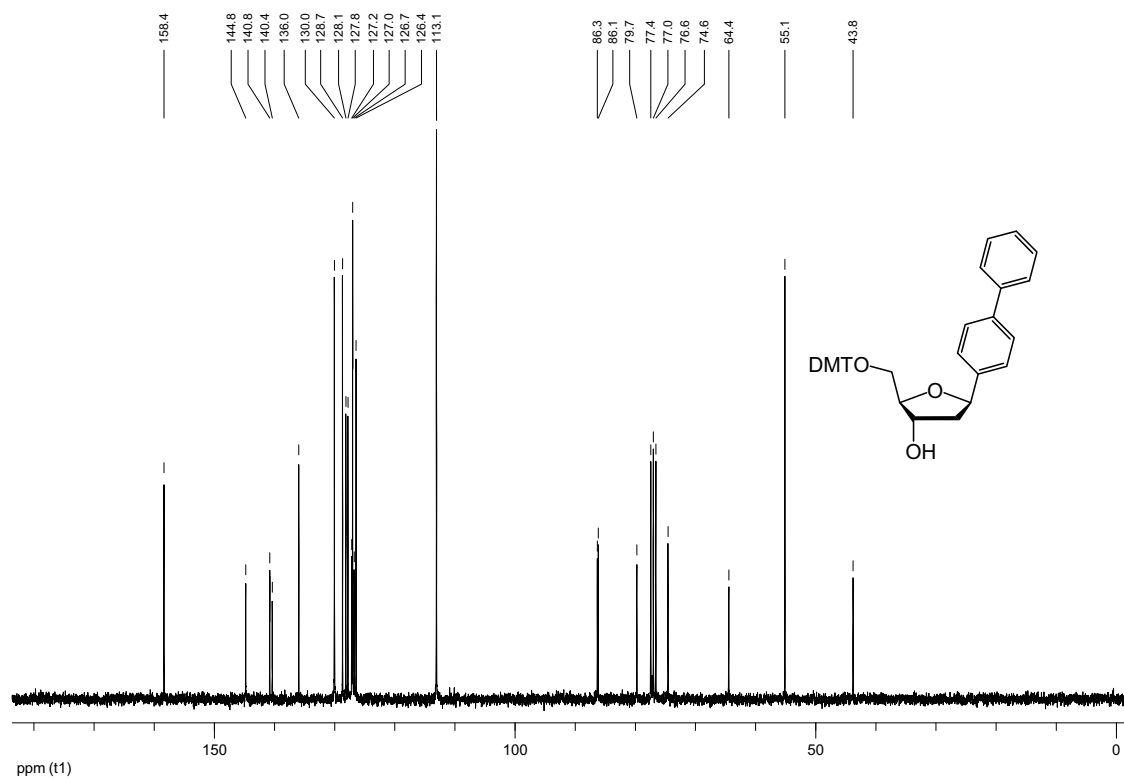
5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(3-phenanthrenyl)ribofuranose 146m $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; CDCl_3) $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz; CDCl_3)

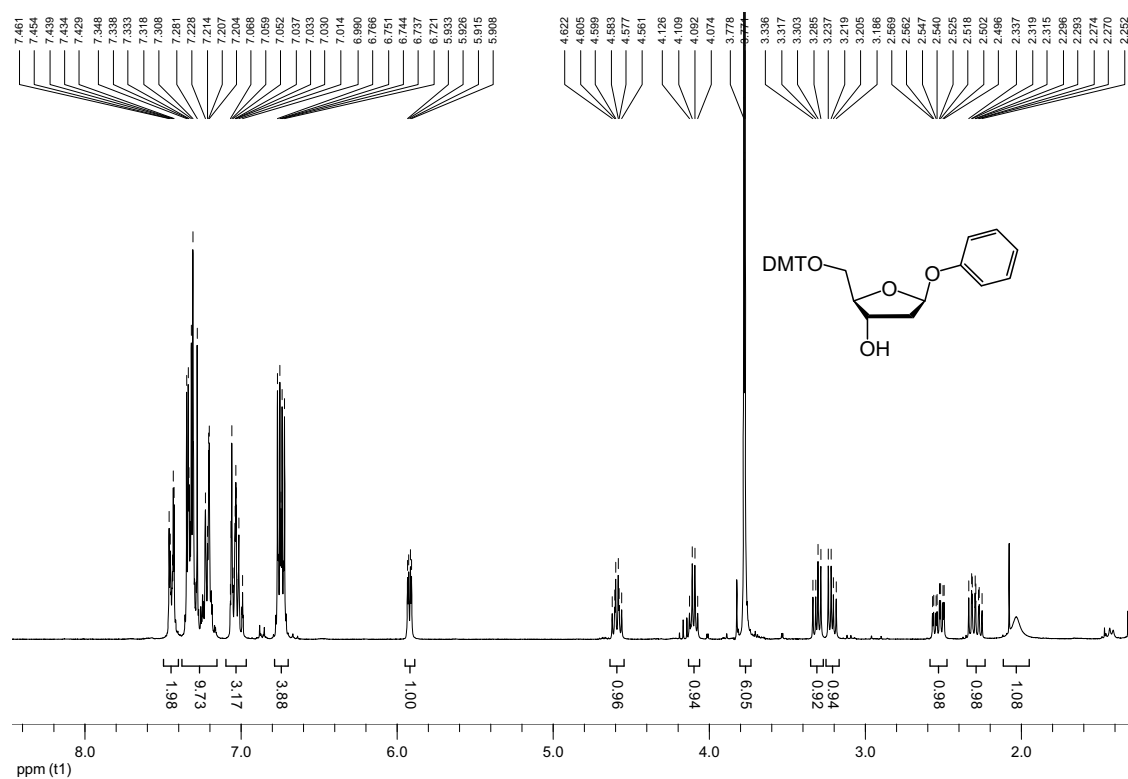
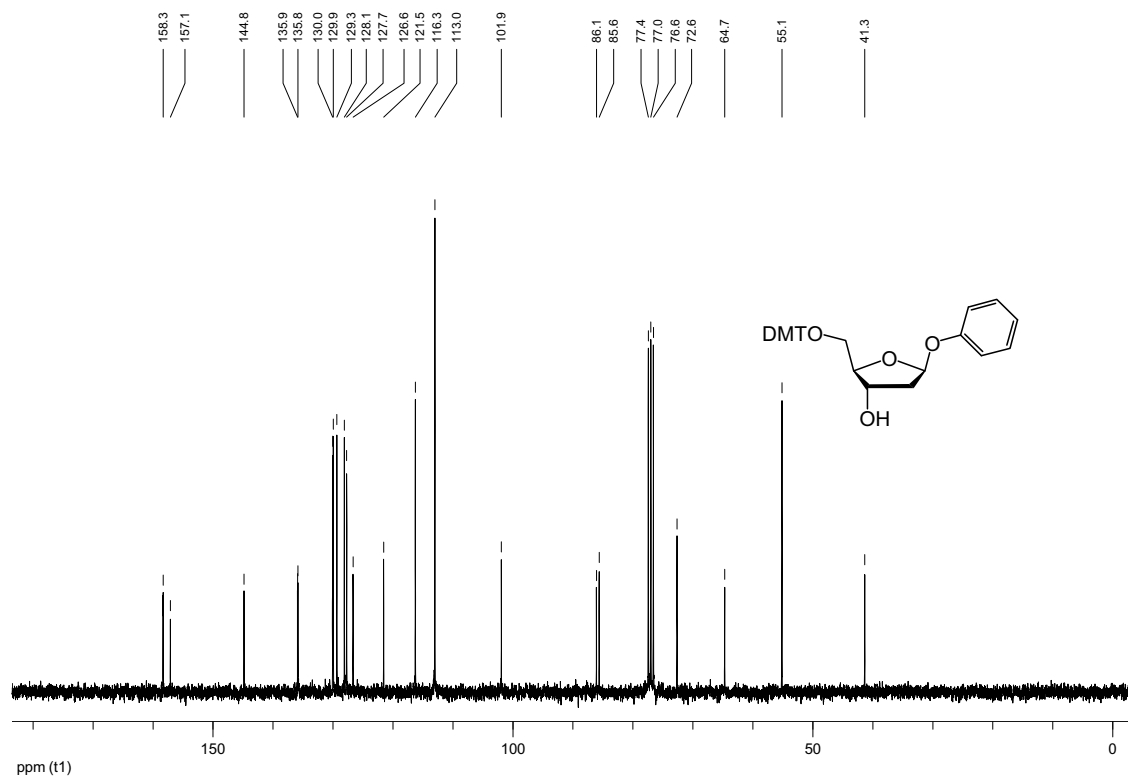
5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(*R,S*-[1,1']-binaphthylen-4-yl)ribofuranose 146n¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)¹³C-NMR (75.5 MHz; CDCl₃)

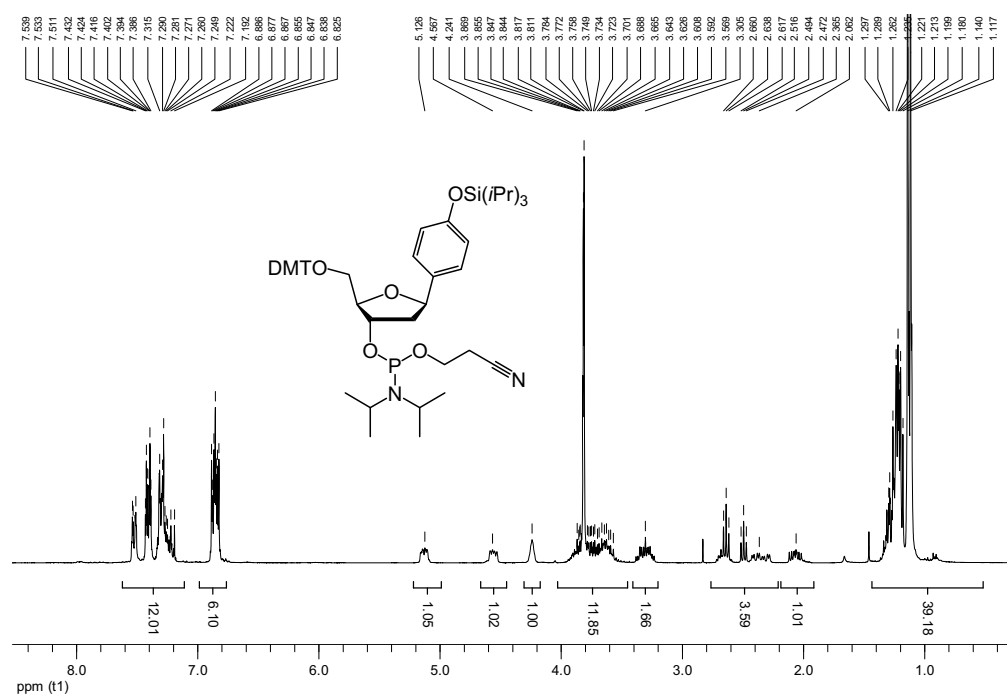
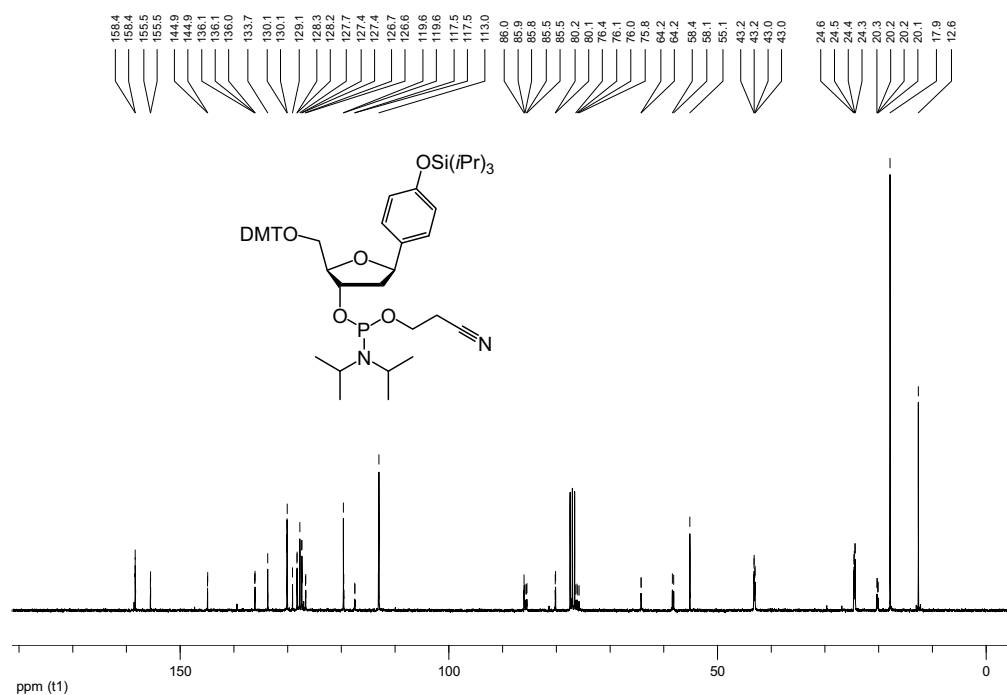
5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(2-(7-phenyl)naphthyl)ribofuranose 1460 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; CDCl_3) $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz; CDCl_3)

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(2-(7-methyl)naphthyl)ribofuranose 146p $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) $^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz; CDCl_3)

¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)¹³C-NMR (75.5 MHz; CDCl₃)

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(4-biphenyl)ribofuranose 146u $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; CDCl_3) $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz; CDCl_3)

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-phenyloxoribofuranose 146v $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; CDCl_3) $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz; CDCl_3)

Phosphoramidite**5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(4-triisopropylsilyloxyphenyl)ribofuranose-3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-N,N'-diisopropylphosphoramidit] 147b β** ¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)¹³C-NMR (75.5 MHz; CDCl₃)

148.9
148.4

DMTO

OSi(*i*Pr)₃

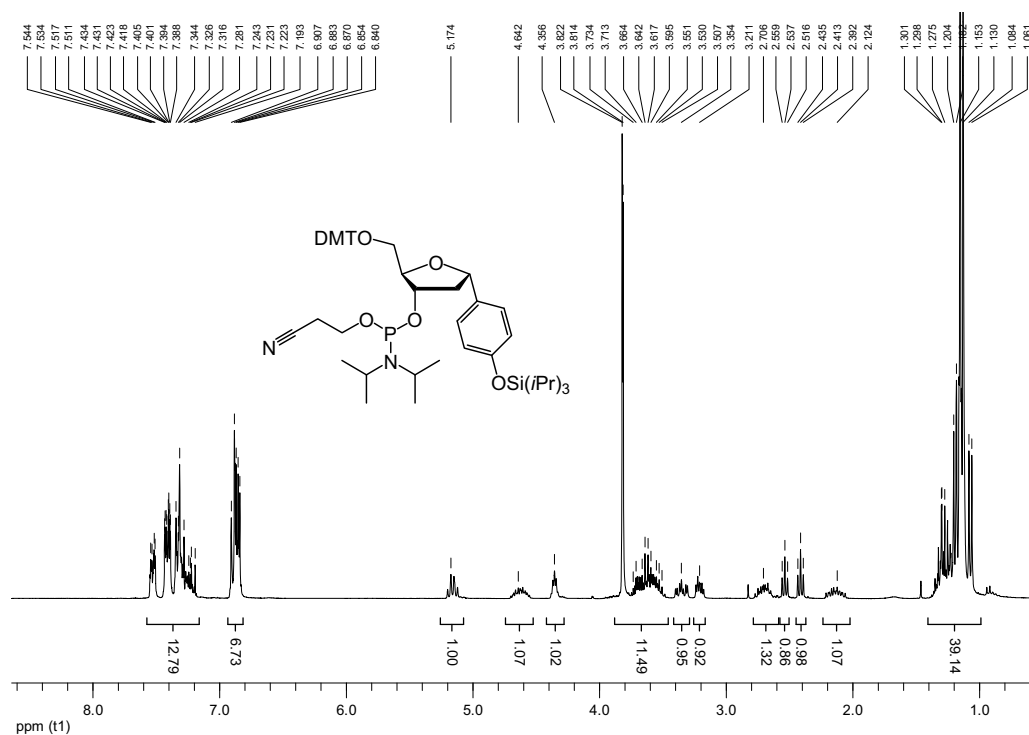
ppm (t1)

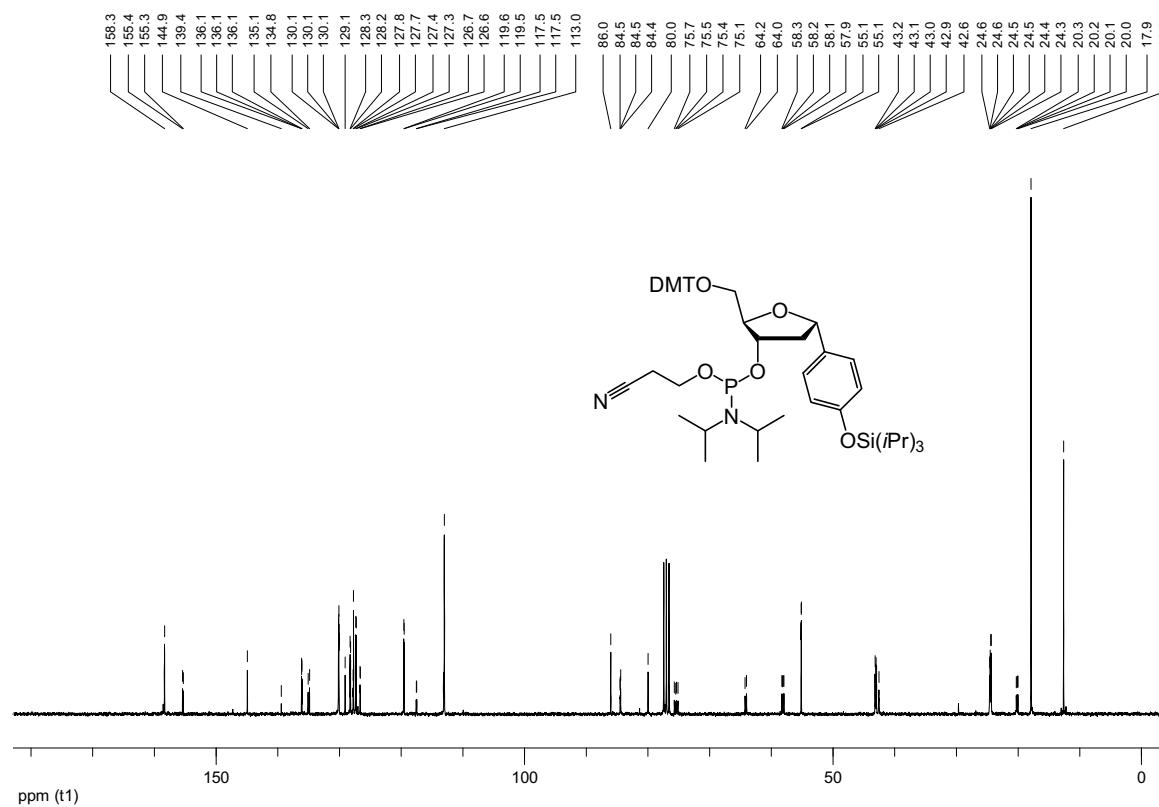
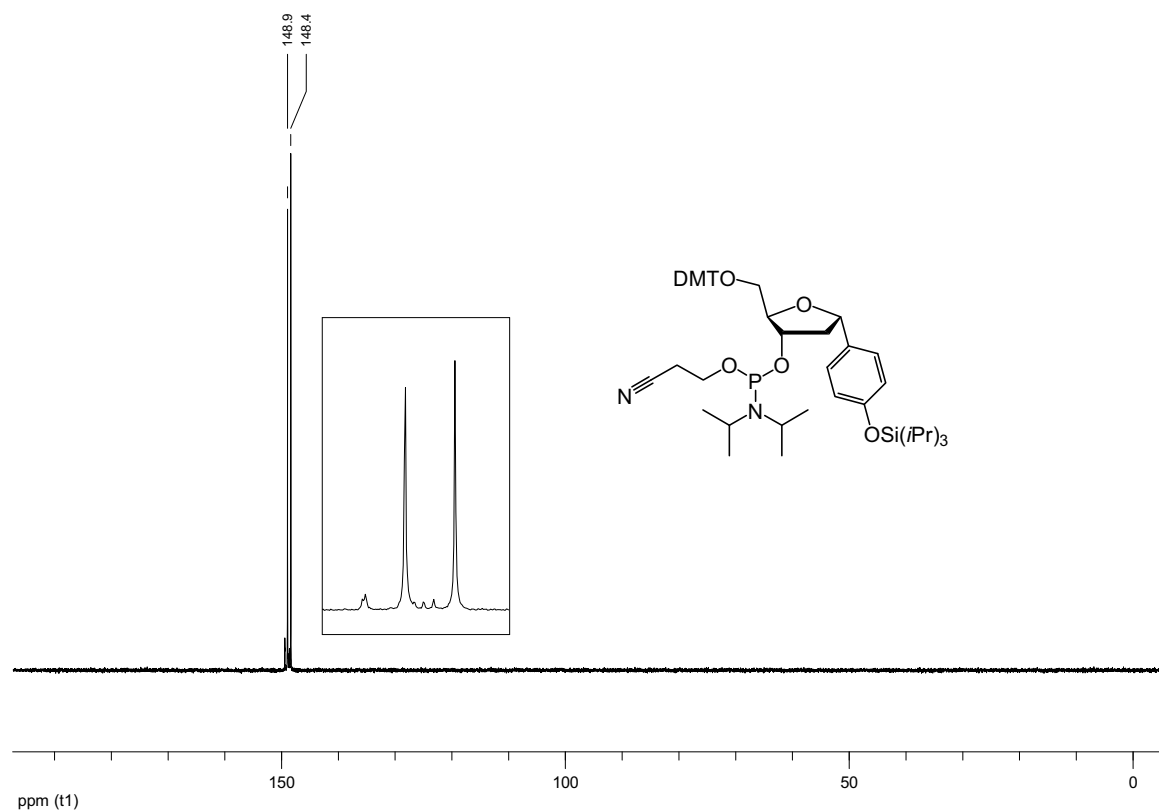
150

100

50

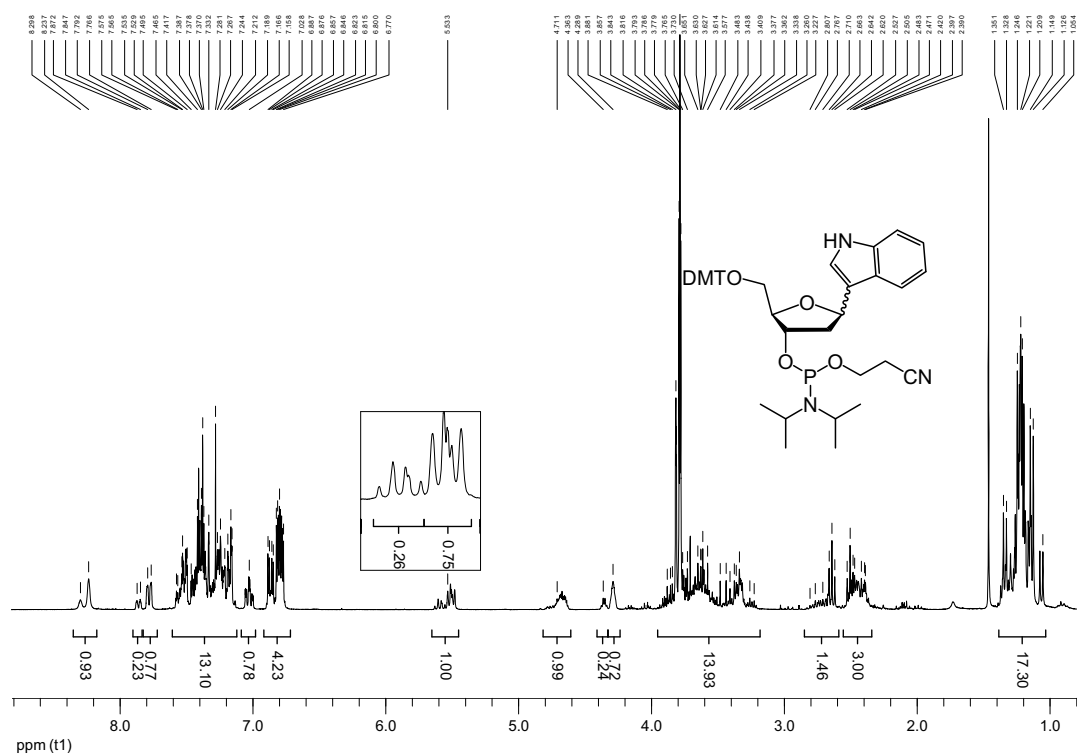
0

¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)

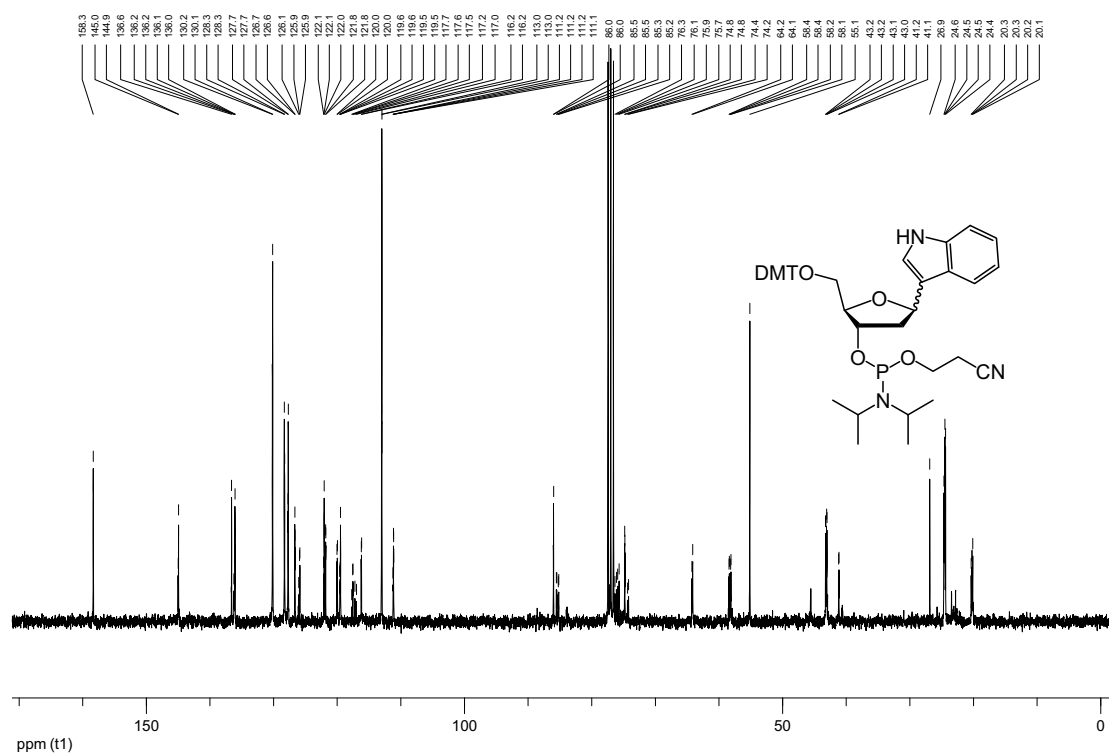
^{13}C -NMR (75.5 MHz; CDCl_3) ^{31}P -NMR (121.5 MHz; CDCl_3)

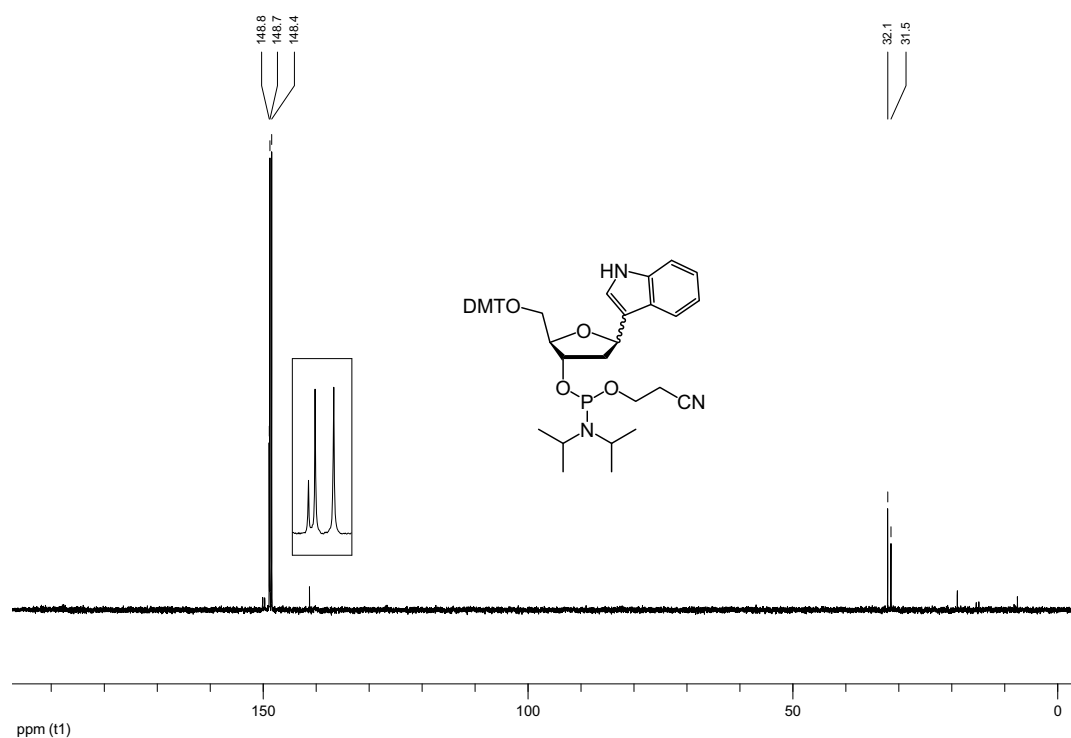
5'-*O*-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(3-indolyl)ribofuranose-3'-*O*-[*O*-(2-cyanoethyl)-*N,N'*-diisopropylphosphoramidit] 147c

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; CDCl_3)

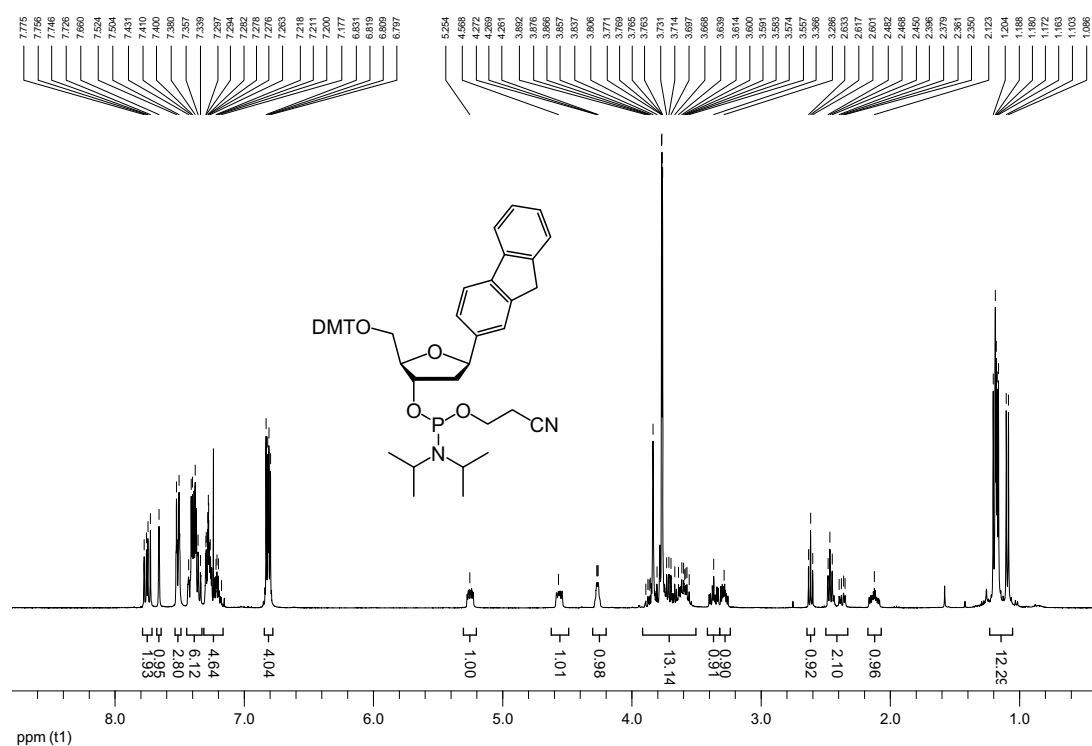


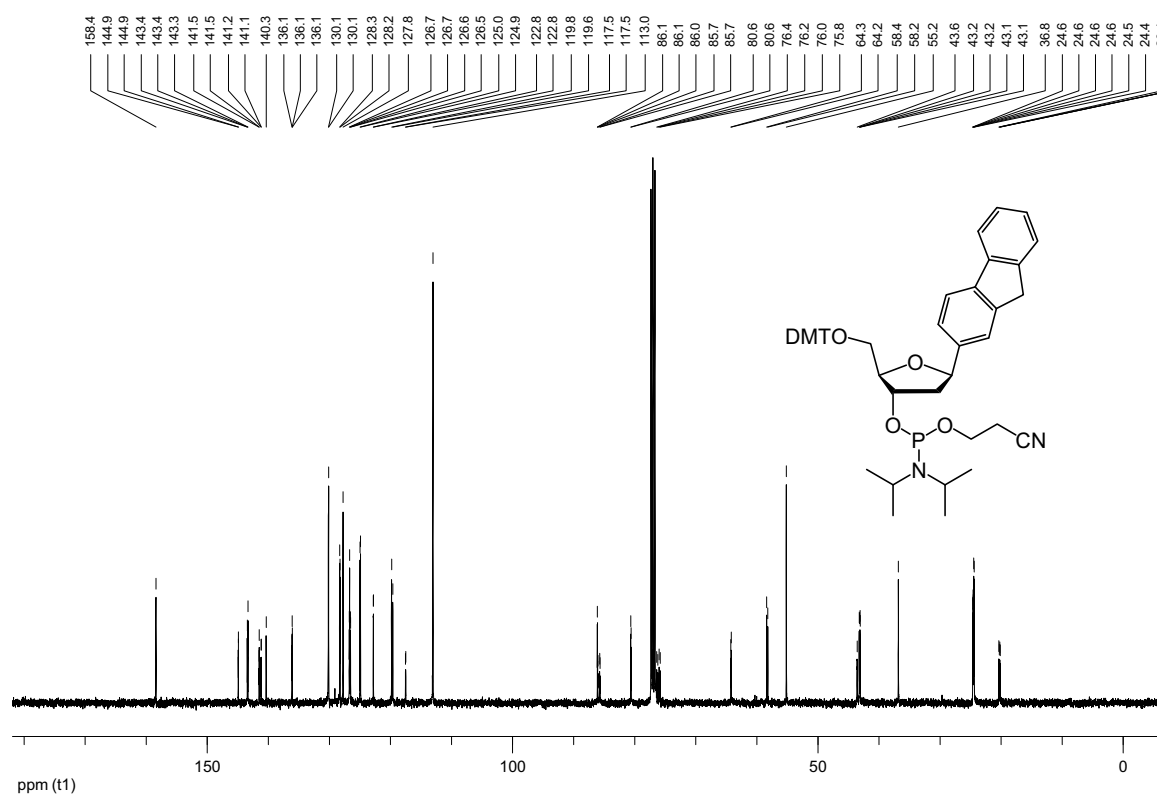
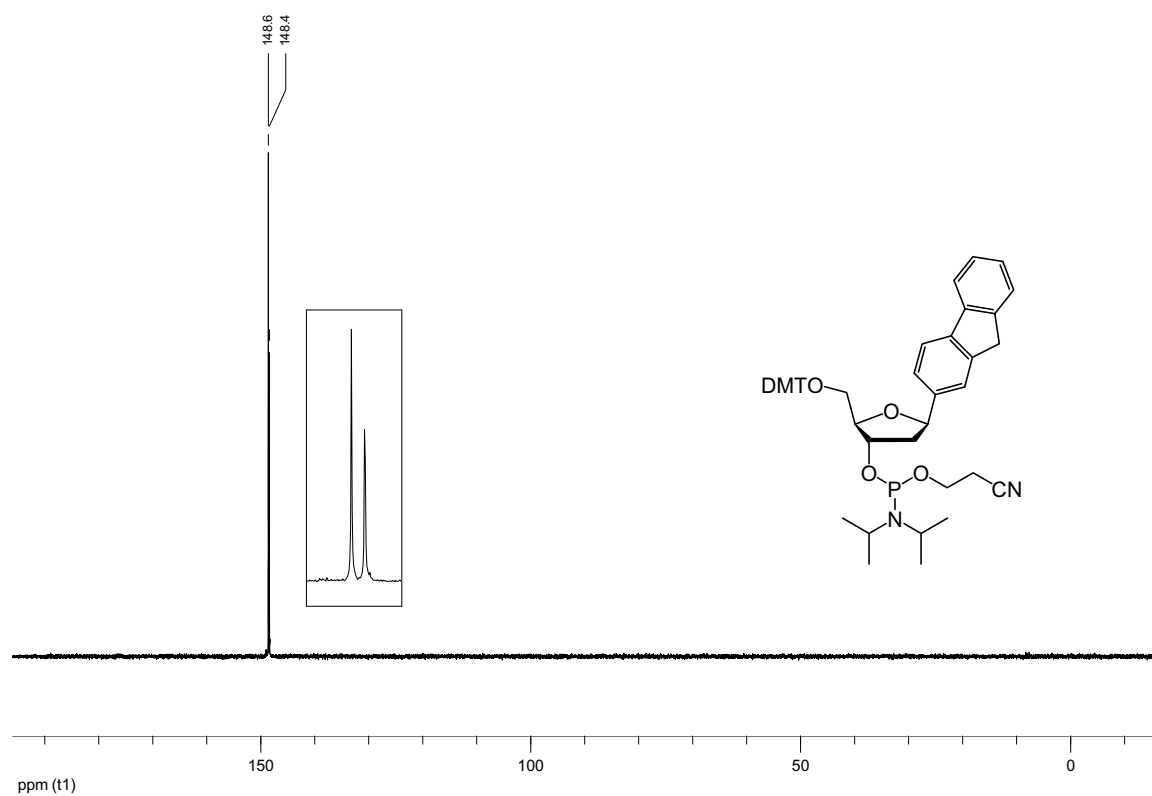
$^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz; CDCl_3)



³¹P-NMR (121.5 MHz; CDCl₃)

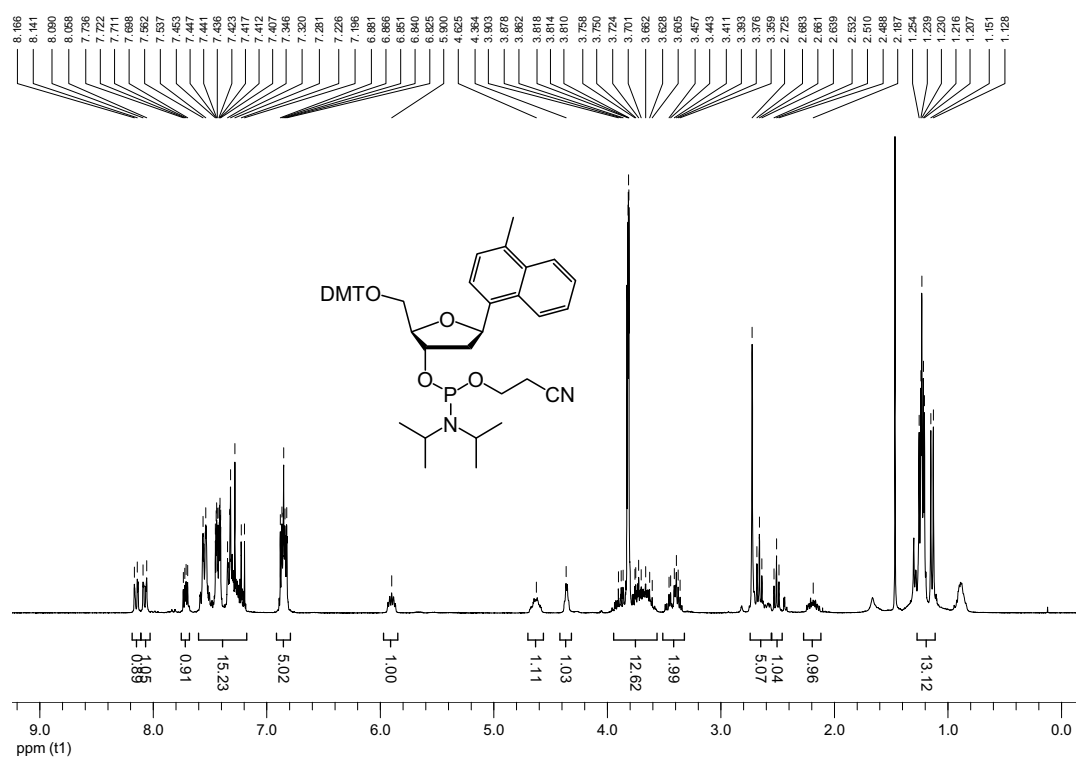
5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-β-1',2'-dideoxy-1'-(2-fluorenyl)ribofuranose-3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-N,N'-diisopropylphosphoramidite] 147e

¹H-NMR (400 MHz; CDCl₃)

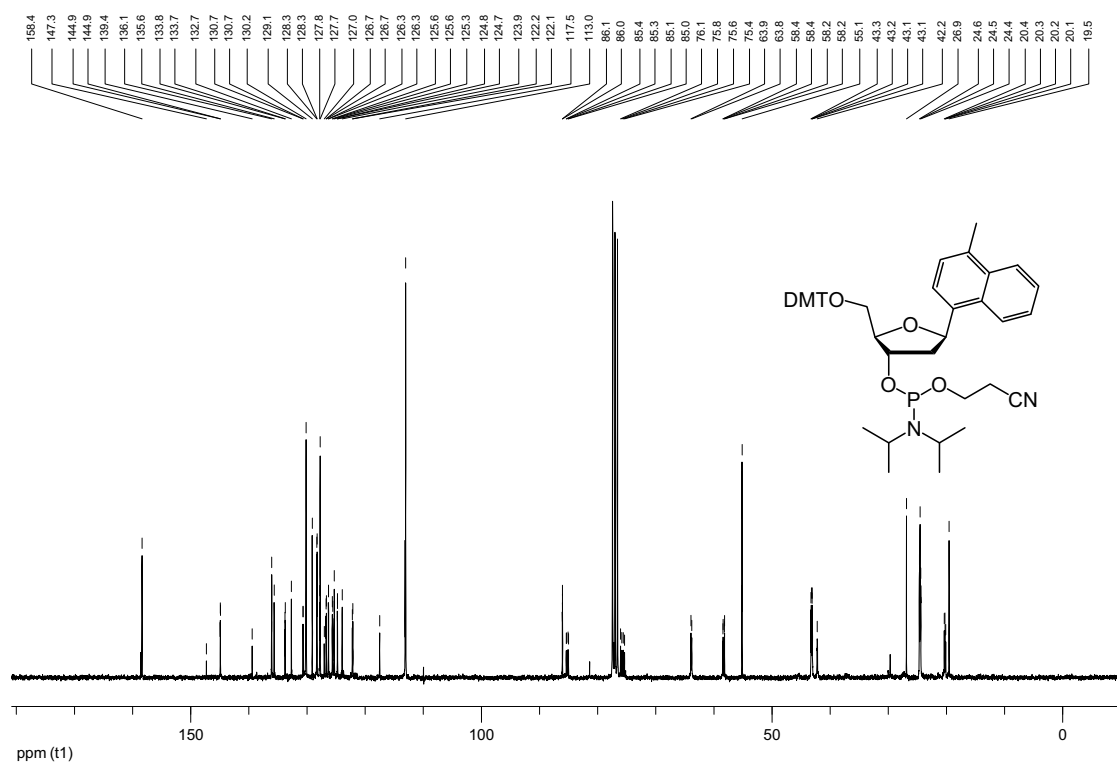
^{13}C -NMR (100.6 MHz; CDCl_3) ^{31}P -NMR (162 MHz; CDCl_3)

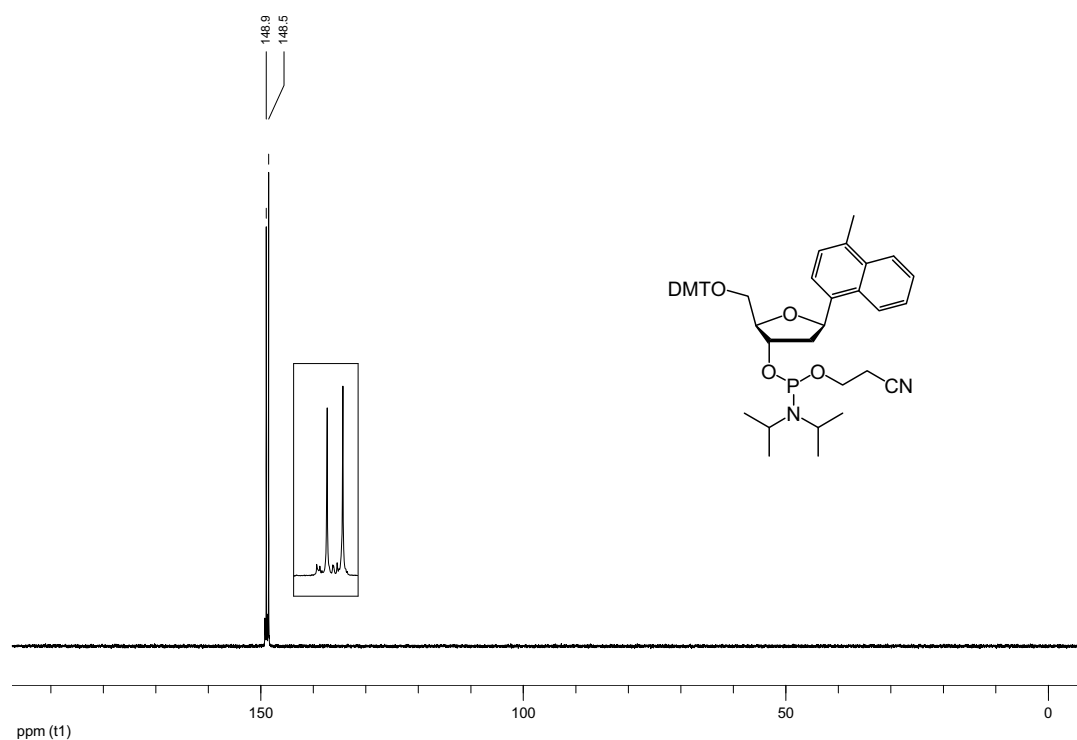
5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(1-(4-methyl)naphthyl)ribofuranose-3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-N,N'-diisopropylphosphoramidit] 147g

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; CDCl_3)

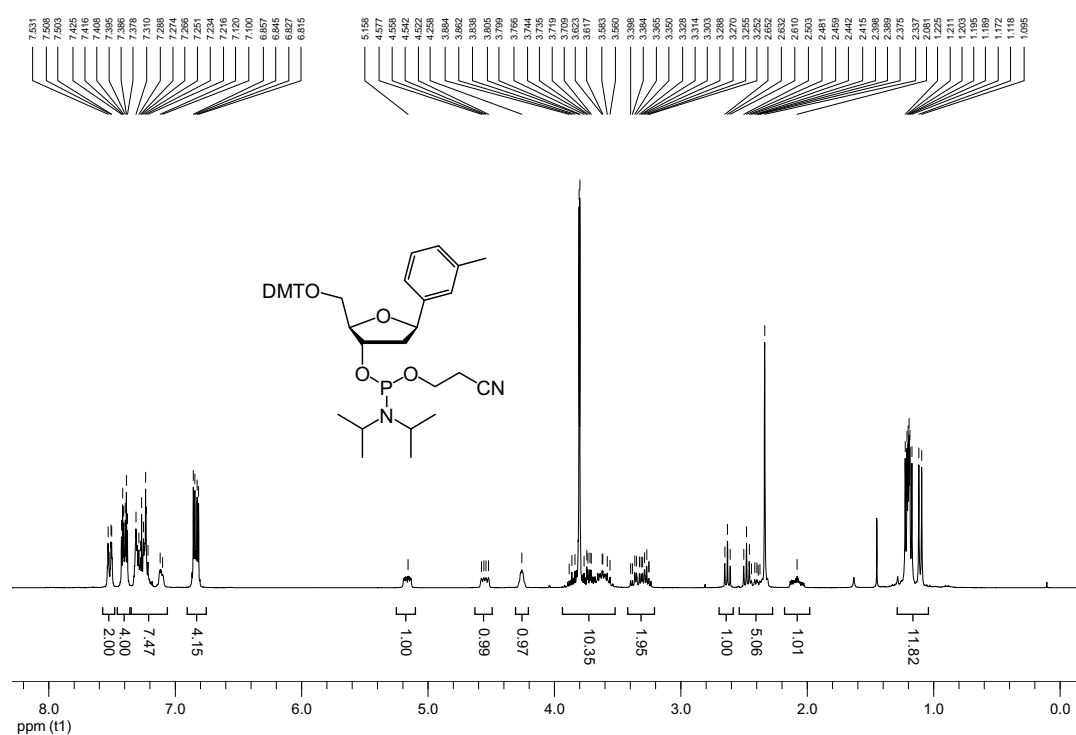


$^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz; CDCl_3)



³¹P-NMR (121.5 MHz; CDCl₃)

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-β-1',2'-dideoxy-1'-(3-tolyl)ribofuranose-3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-N,N'-diisopropylphosphoramidit] 147i

¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)

Chemical structure of compound 10b is shown in the top right. The structure is a substituted furanose derivative with a DMTA group, a 4-methylphenyl group, a 2-cyanoethyl group, and a 2-isopropyl-1-methyl-2-oxoethyl group.

The ¹³C NMR spectrum shows peaks at the following chemical shifts (ppm): 158.4, 145.0, 145.0, 141.6, 138.0, 138.0, 136.2, 136.2, 136.1, 136.1, 130.2, 130.2, 130.2, 128.3, 128.3, 127.8, 126.8, 126.8, 126.7, 123.2, 117.6, 117.5, 113.1, 86.1, 86.1, 80.4, 80.4, 77.5, 77.1, 76.7, 76.4, 76.2, 76.0, 75.8, 64.3, 64.2, 58.5, 58.2, 55.2, 43.4, 43.4, 43.3, 43.3, 43.2, 43.1, 43.1, 24.7, 24.6, 24.5, 24.4, 21.5, 20.4, 20.3, 20.3, 20.2.

147.9
147.7

DMTO

140

130

120

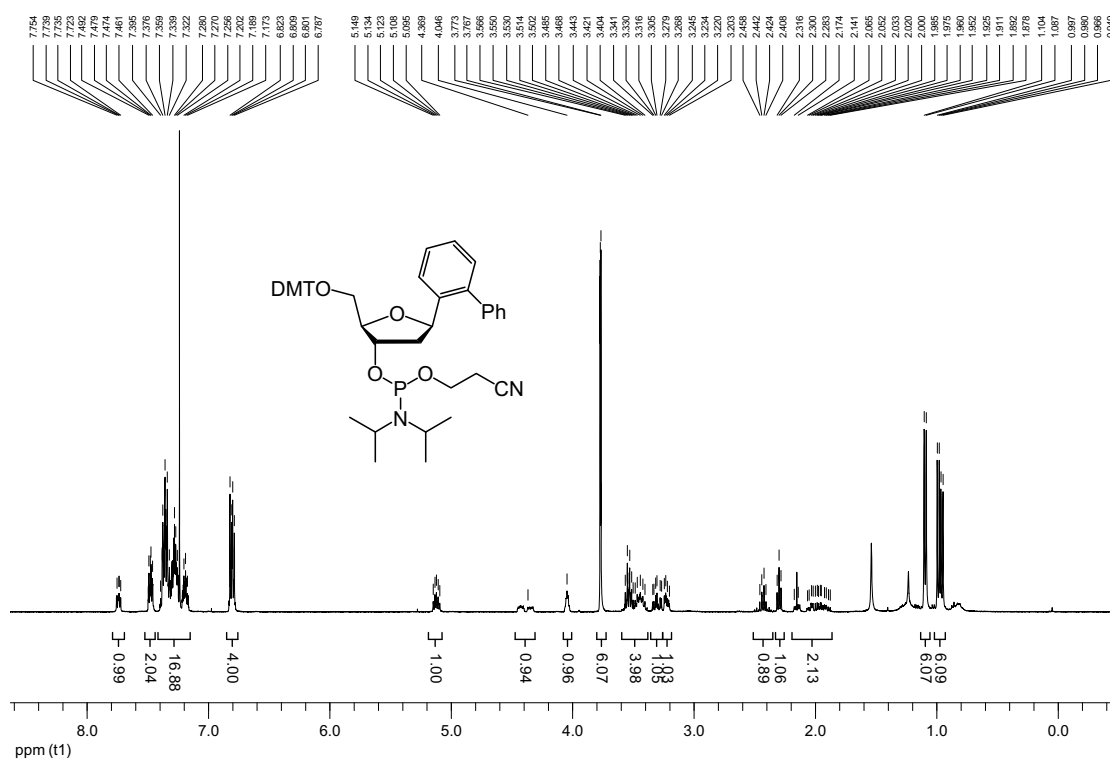
110

100

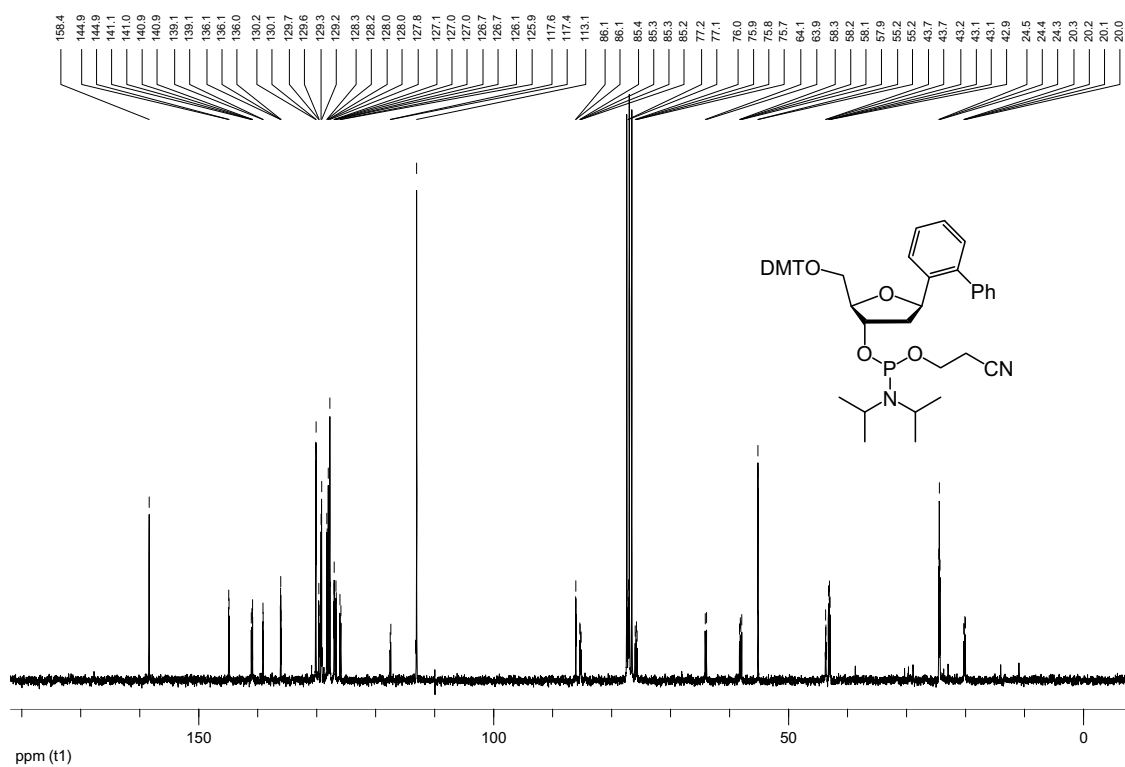
ppm (t1)

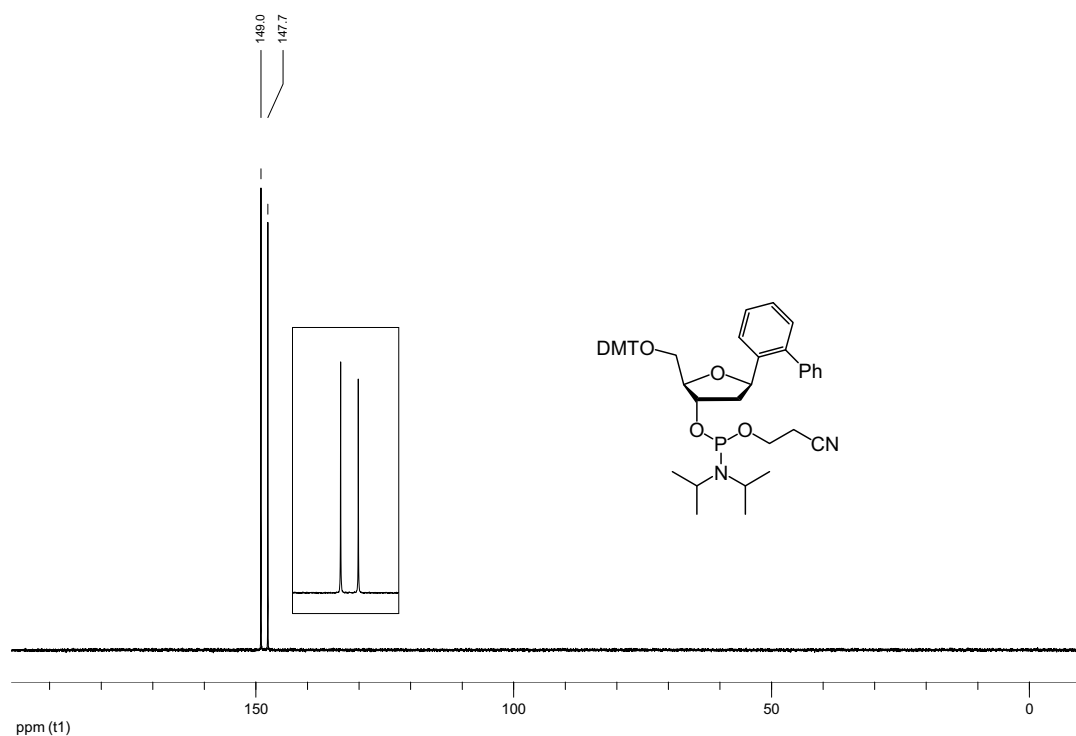
5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(2-biphenyl)ribofuranose-3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-N,N'-diisopropylphosphoramidit] 147j

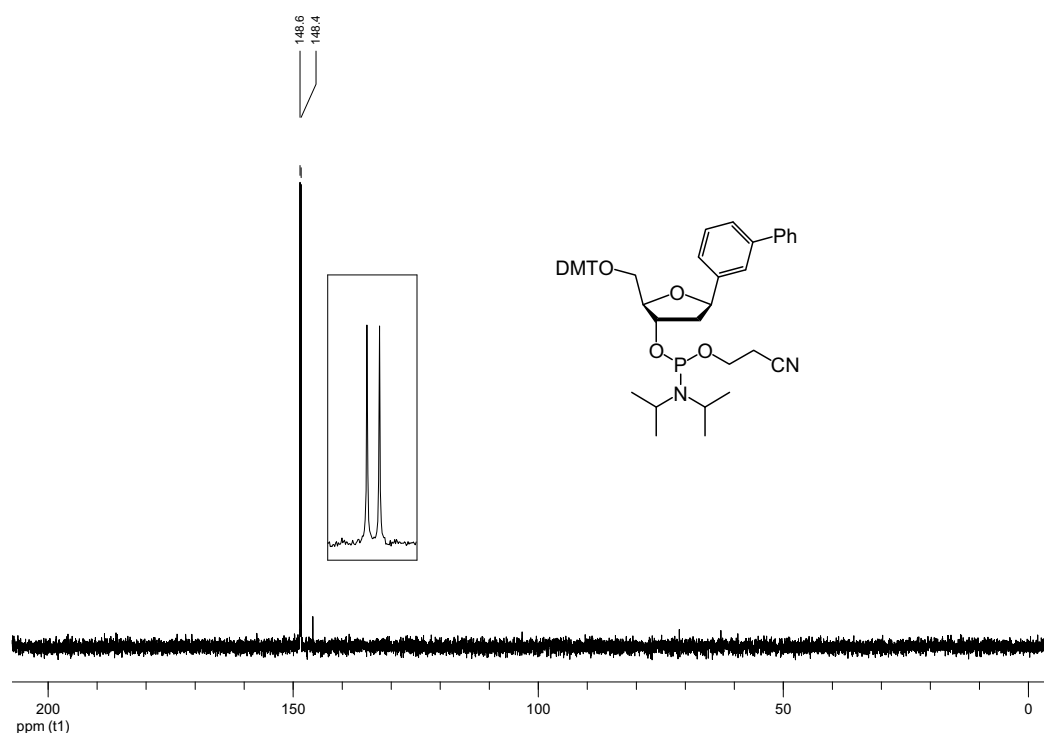
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz; CDCl_3)



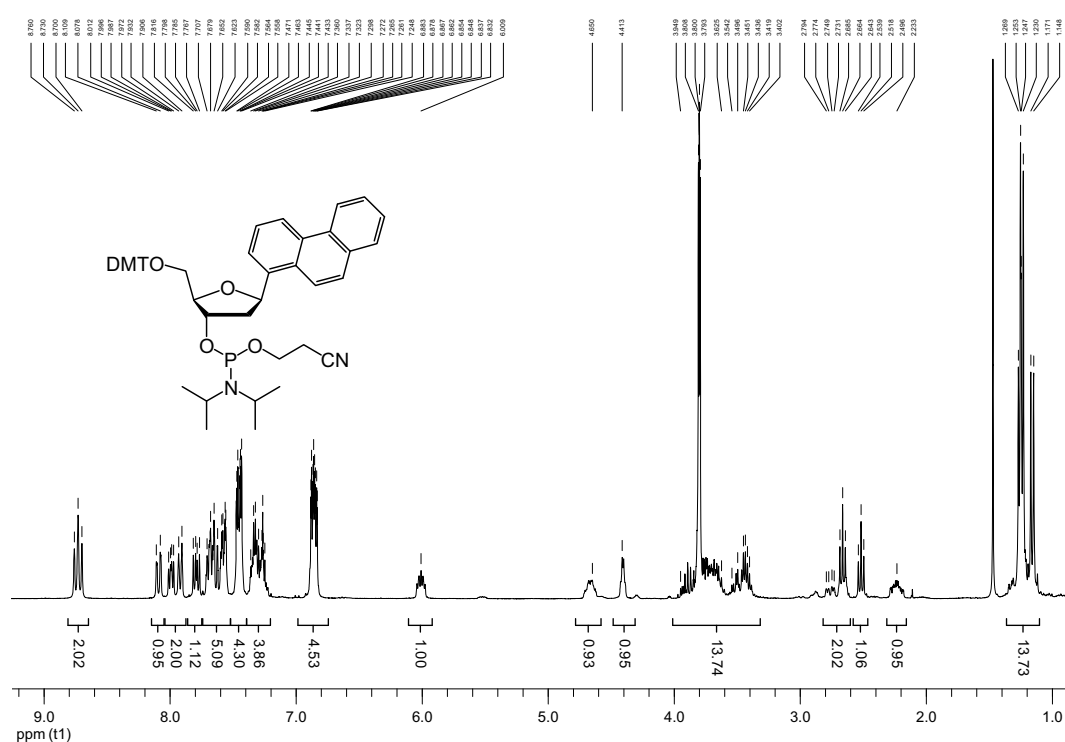
$^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz; CDCl_3)

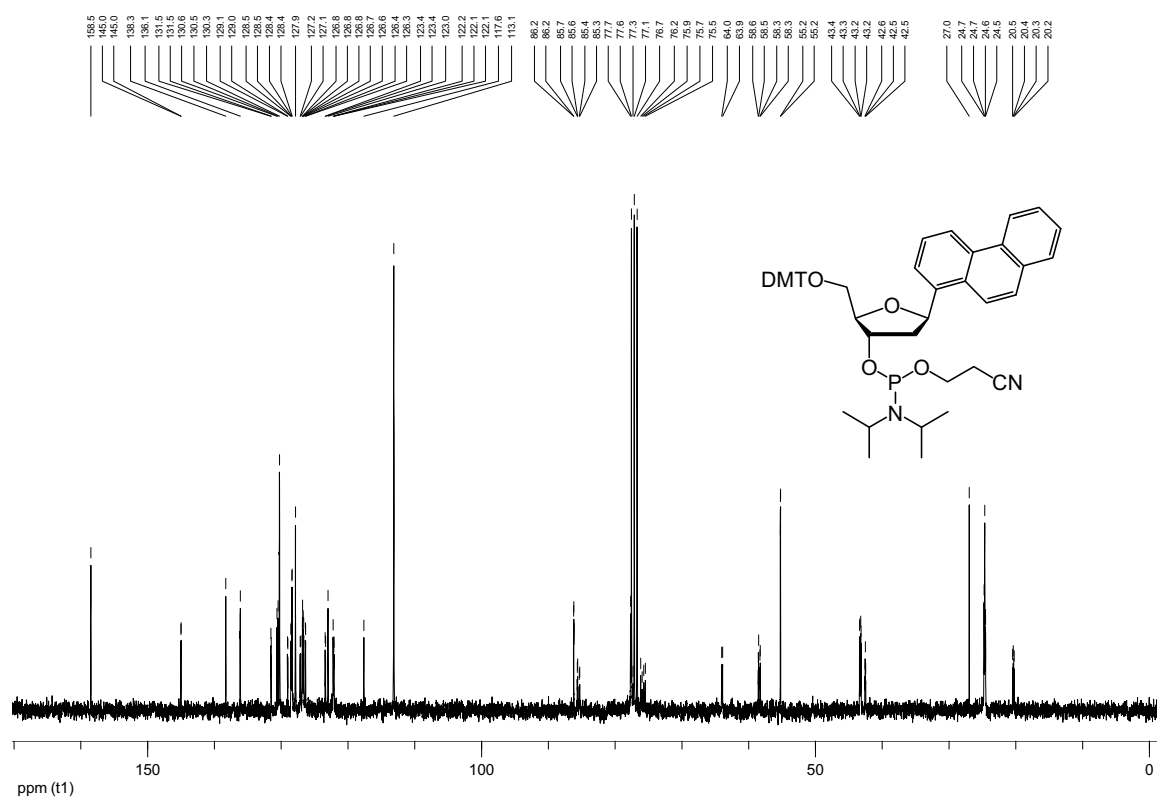
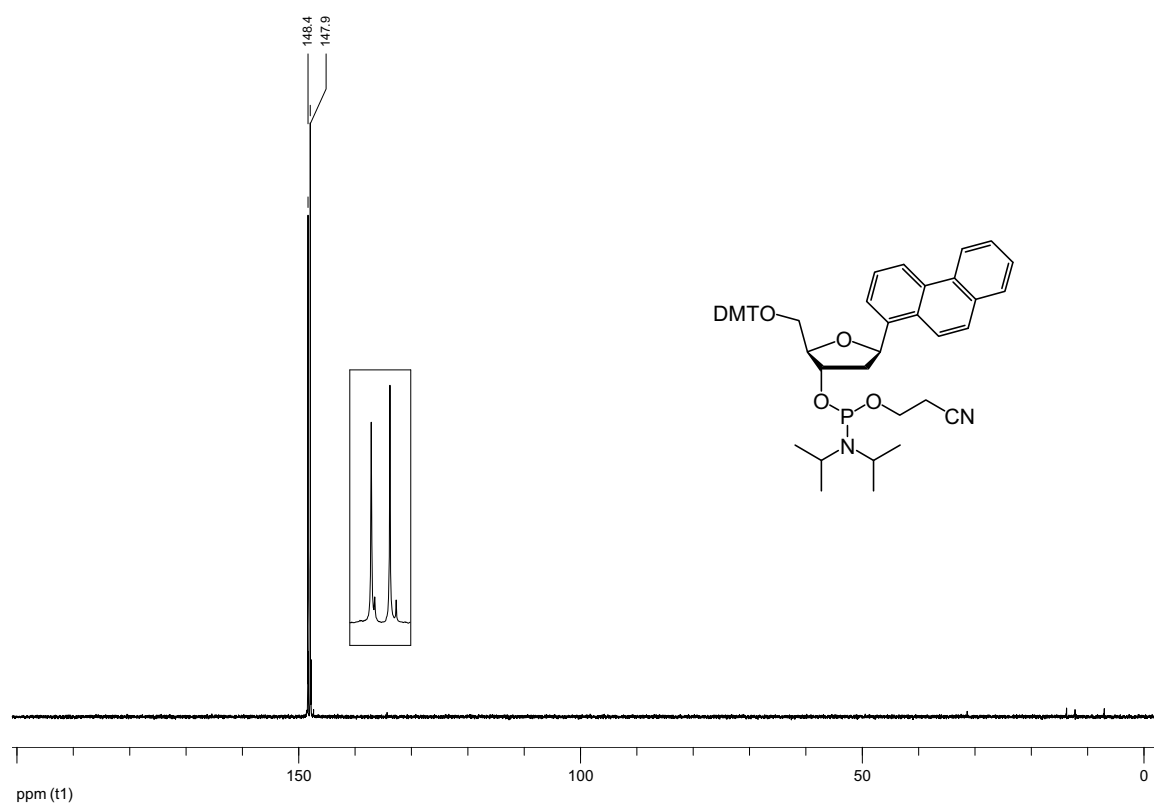


³¹P-NMR (121.5 MHz; CDCl₃)

³¹P-NMR (121.5 MHz; CDCl₃)

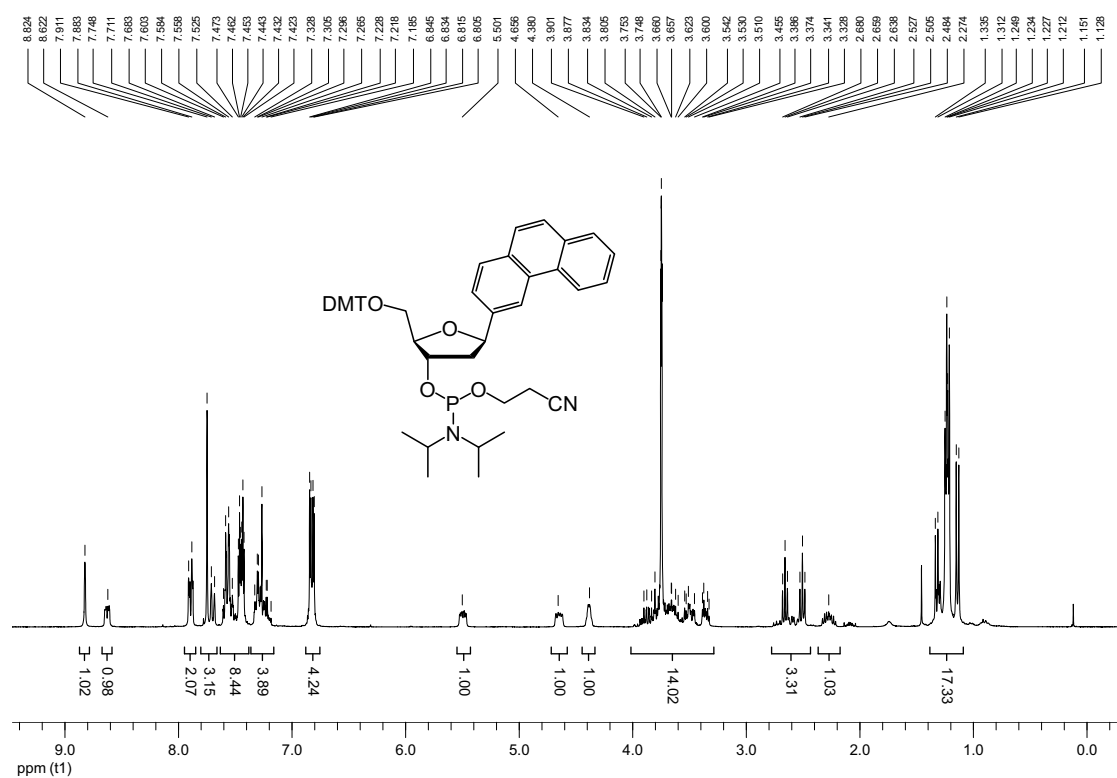
5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-β-1',2'-dideoxy-1'-(1-phenanthrenyl)ribofuranose-3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-N,N'-diisopropylphosphoramidit] 147I

¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)

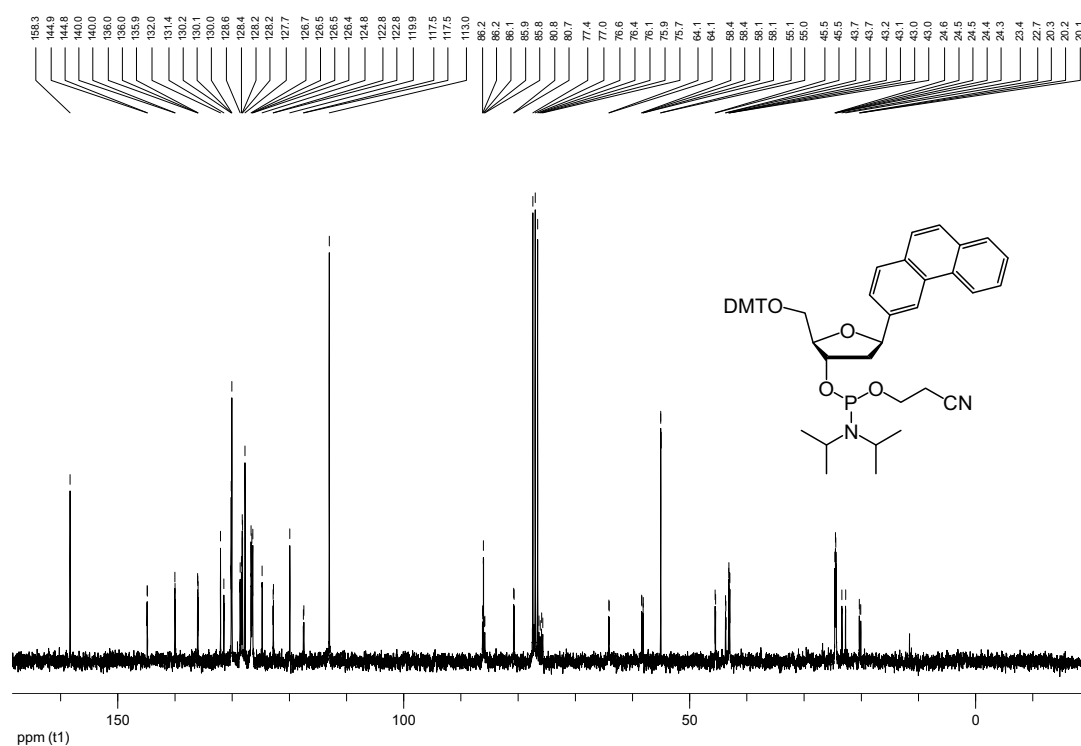
^{13}C -NMR (75.5 MHz; CDCl_3) ^{31}P -NMR (121.5 MHz; CDCl_3)

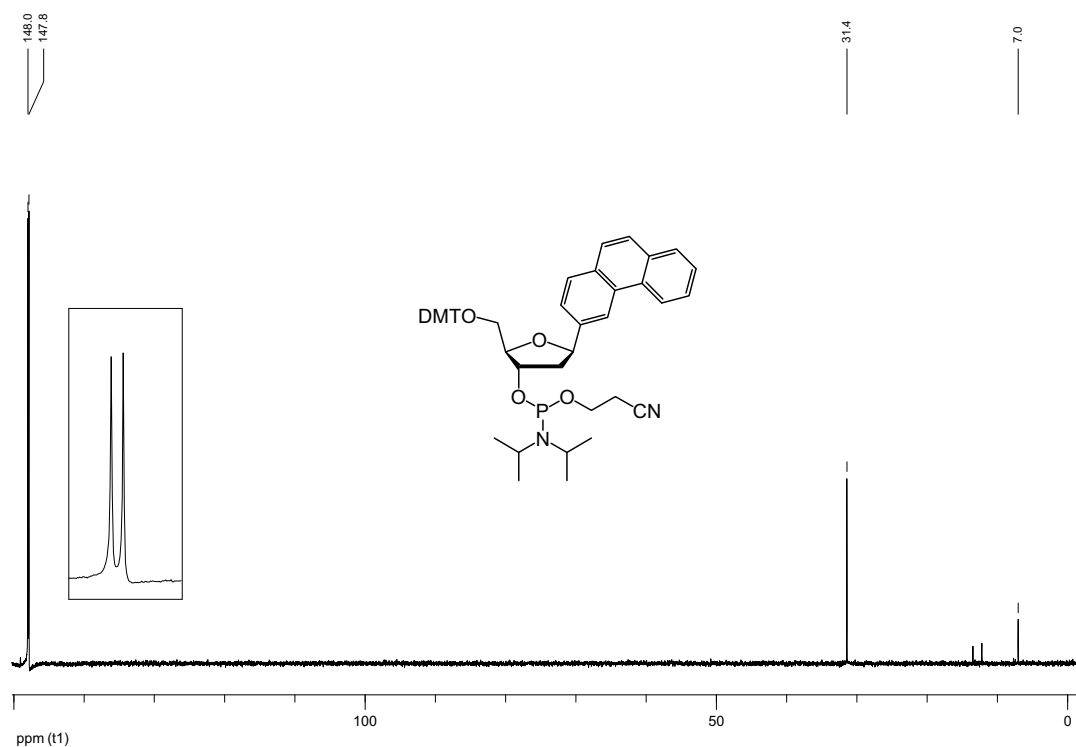
5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(3-phenanthrenyl)ribofuranose-3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-N,N'-diisopropylphosphoramidit] 147m

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; CDCl_3)

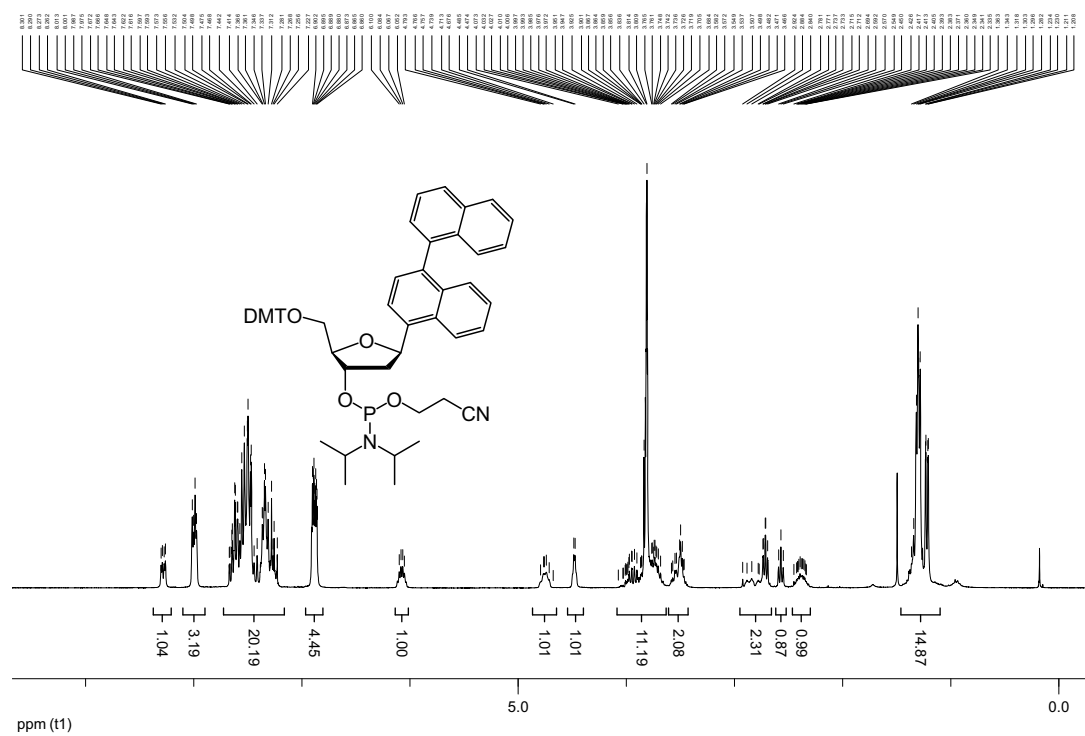


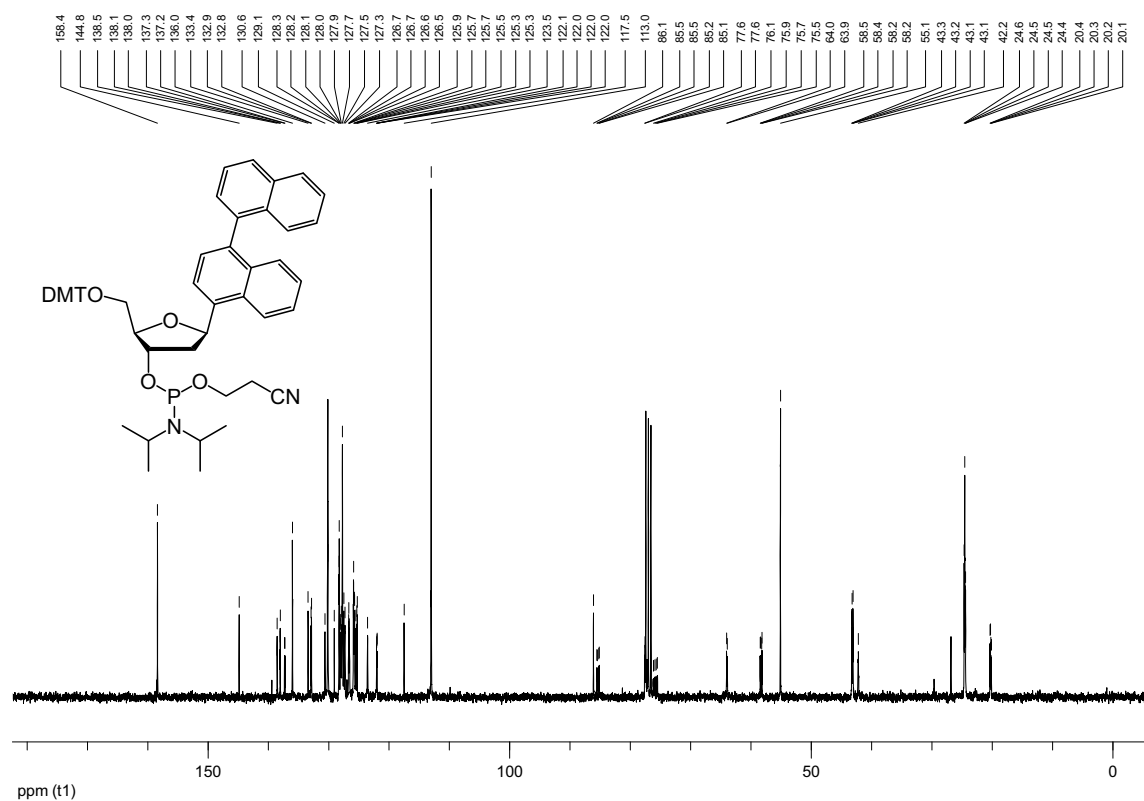
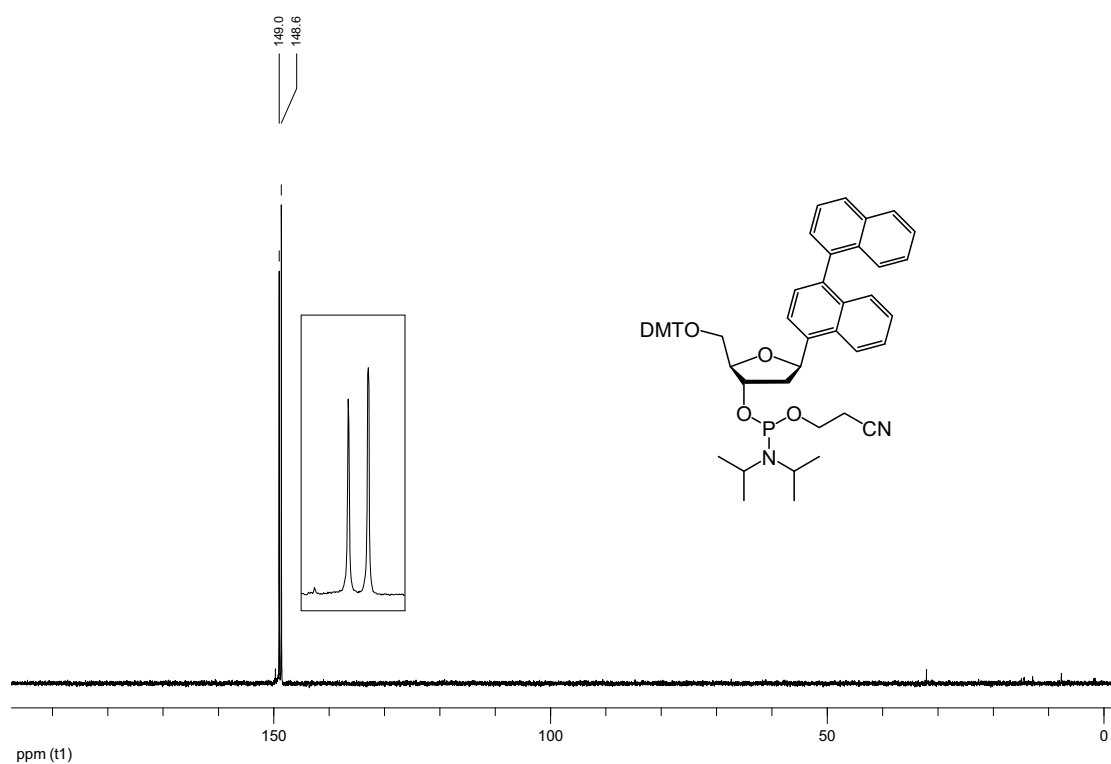
$^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz; CDCl_3)



³¹P-NMR (121.5 MHz; CDCl₃)

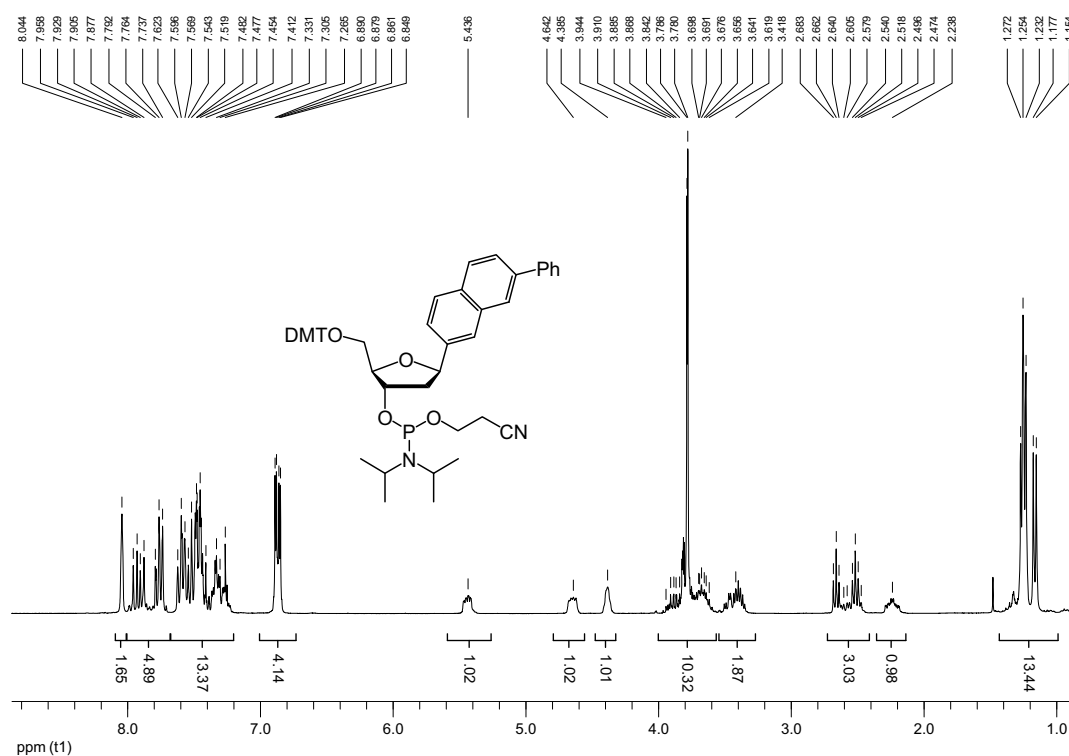
5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-β-1',2'-dideoxy-1'-(*R,S*-[1,1']-binaphthyl-4-yl)ribofuranose-3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-*N,N'*-diisopropylphosphoramidite] 147n

¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)

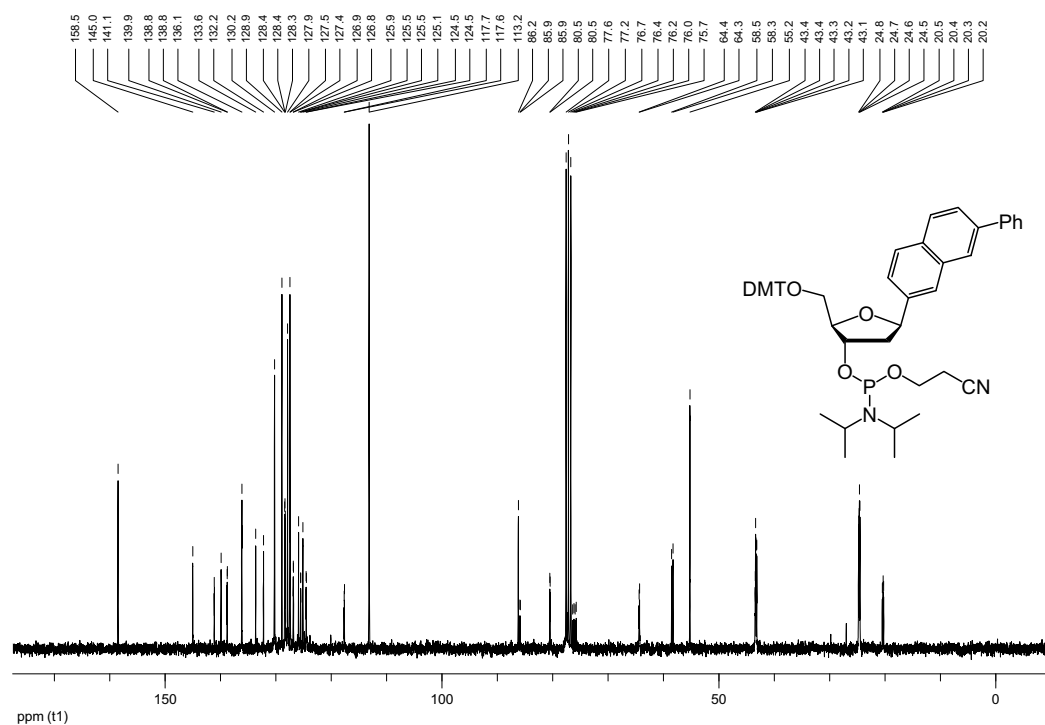
^{13}C -NMR (75.5 MHz; CDCl_3) ^{31}P -NMR (121.5 MHz; CDCl_3)

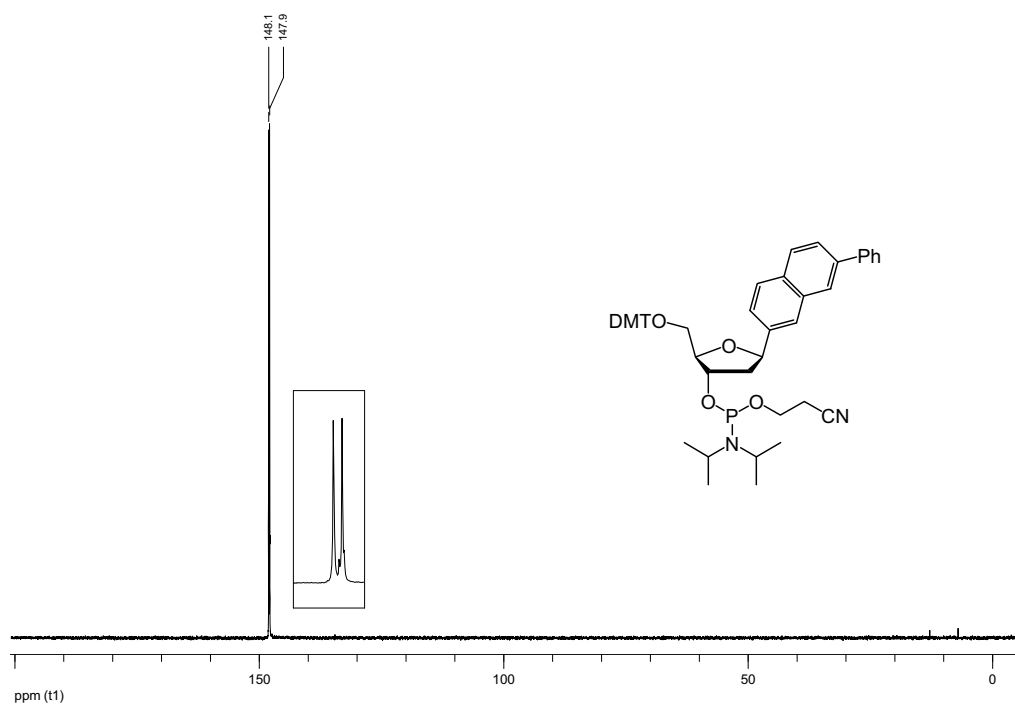
5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(2-(7-phenyl)naphthyl)ribofuranose-3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-N,N'-diisopropylphosphoramidit] 147o

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; CDCl_3)

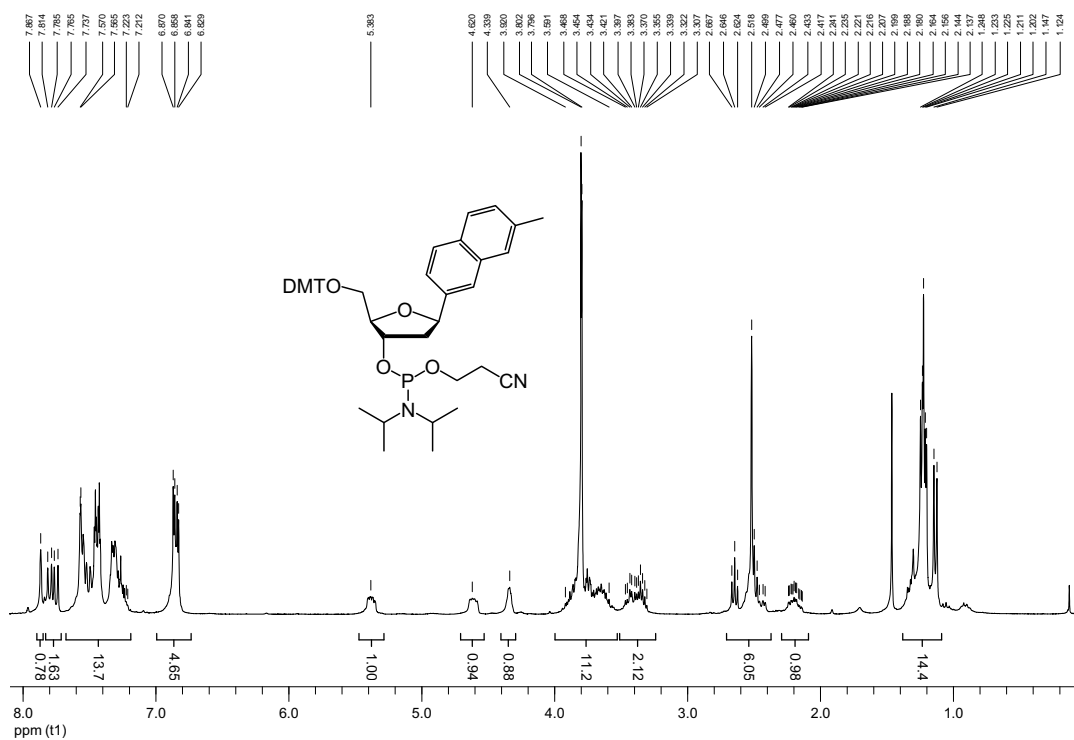


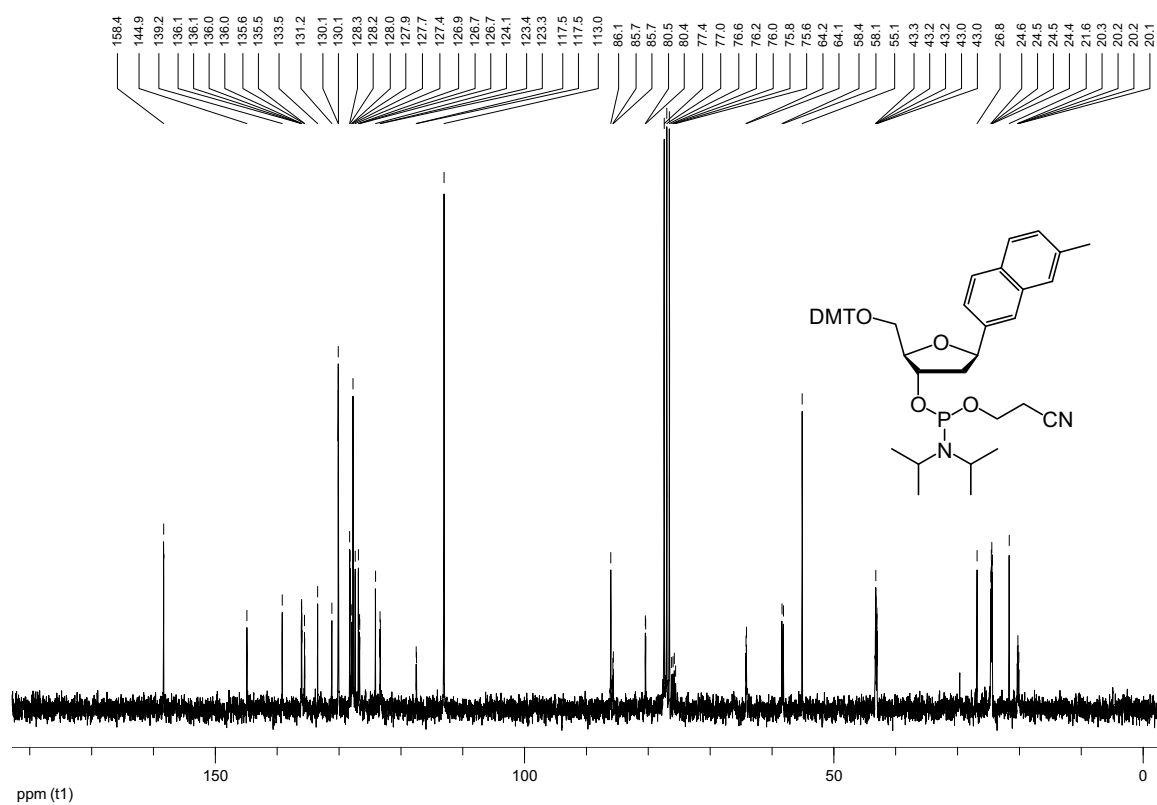
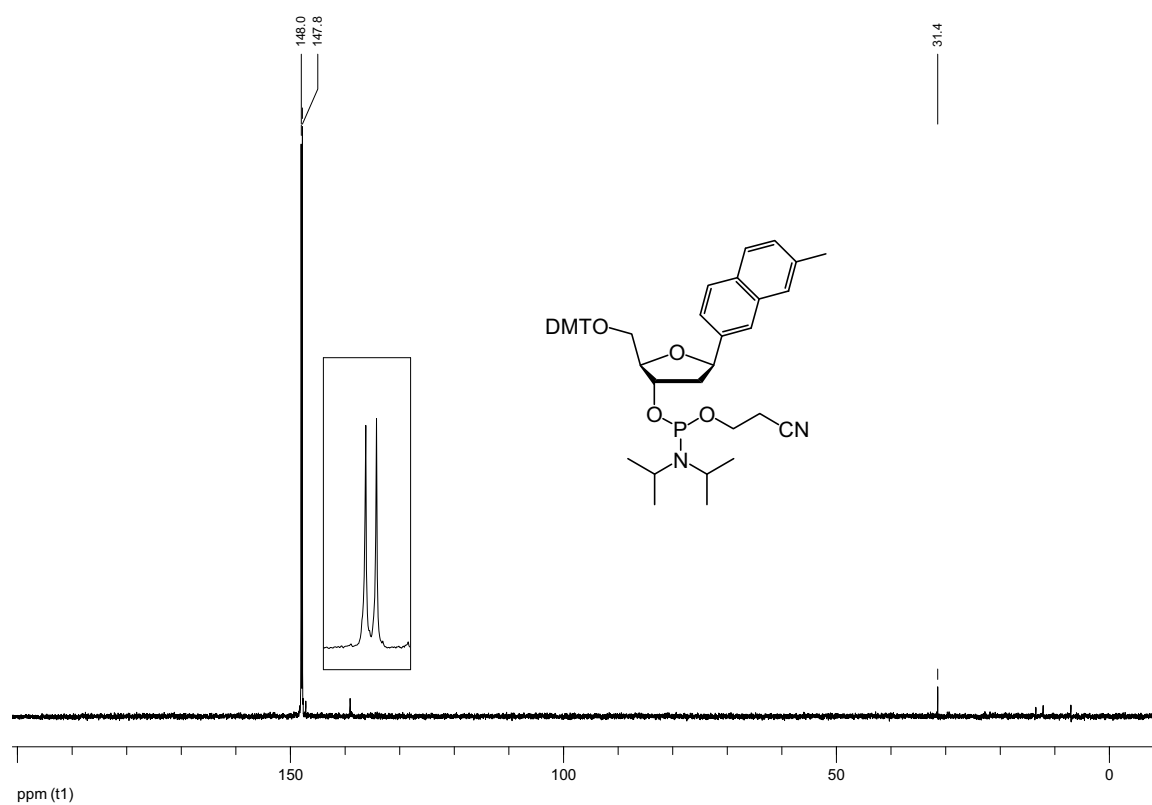
$^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz; CDCl_3)



³¹P-NMR (121.5 MHz; CDCl₃)

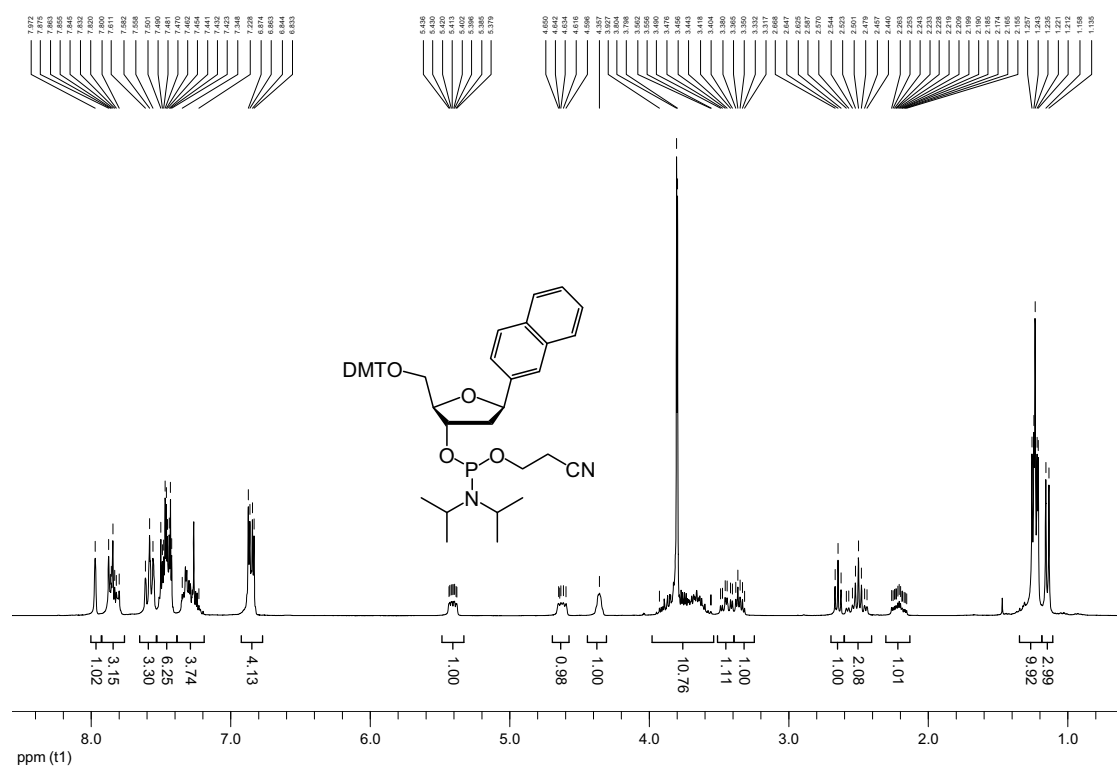
5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-β-1',2'-dideoxy-1'-(2-(7-methyl)naphthyl)ribofuranose-3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-N,N'-diisopropylphosphoramidite] 147p

¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)

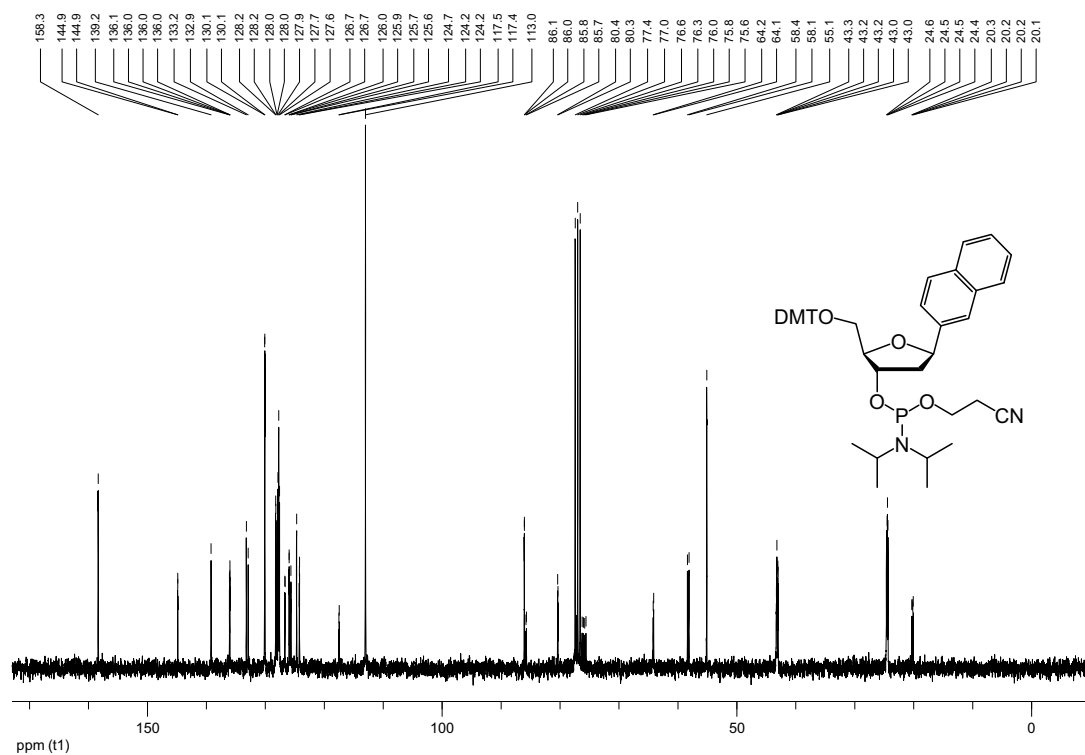
^{13}C -NMR (75.5 MHz; CDCl_3) ^{31}P -NMR (121.5 MHz; CDCl_3)

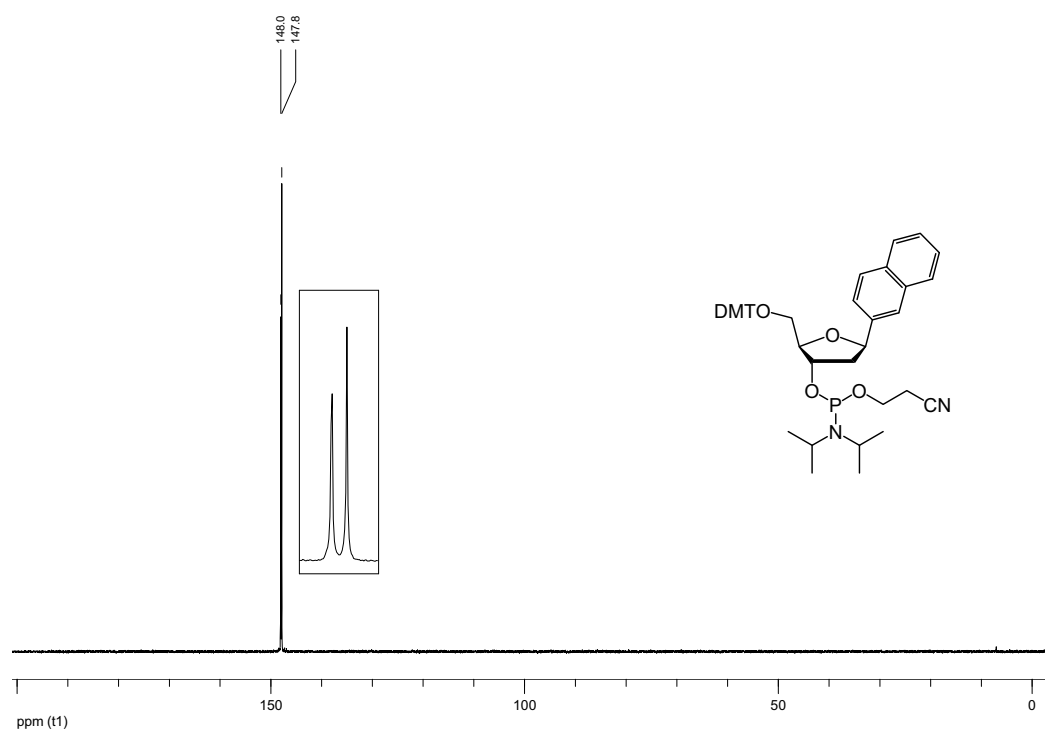
5'-*O*-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(2-naphthyl)ribofuranose-3'-*O*-[*O*-(2-cyanoethyl)-*N,N'*-diisopropylphosphoramidite] 147s

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; CDCl_3)

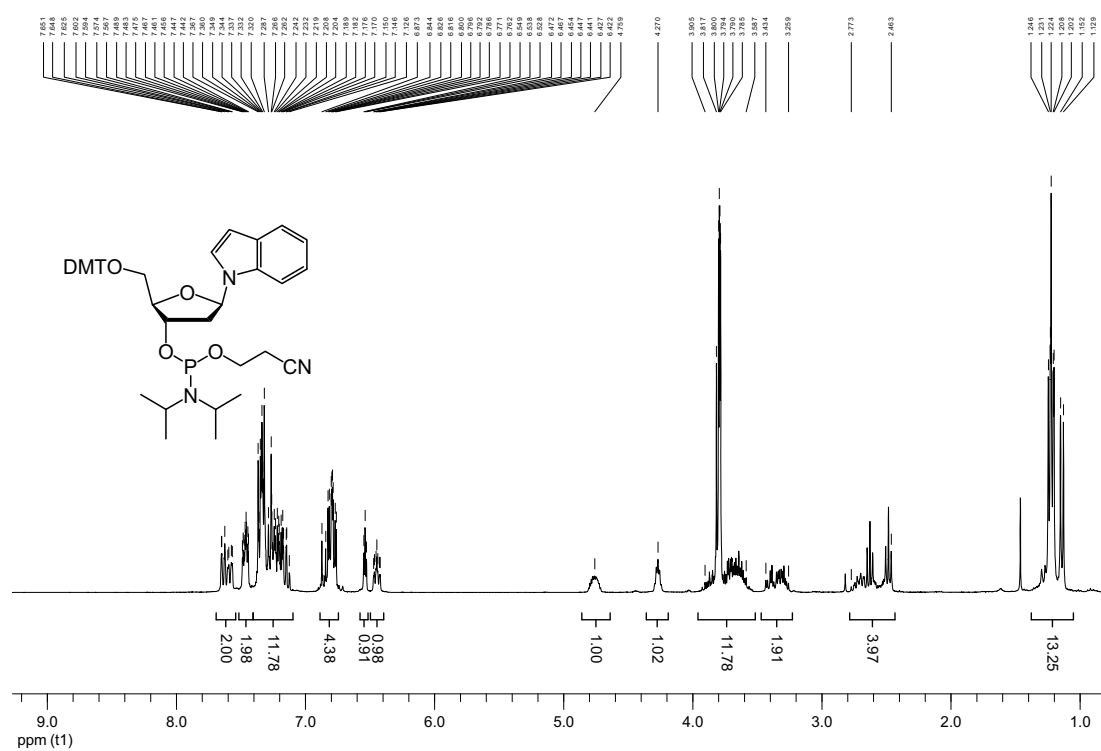


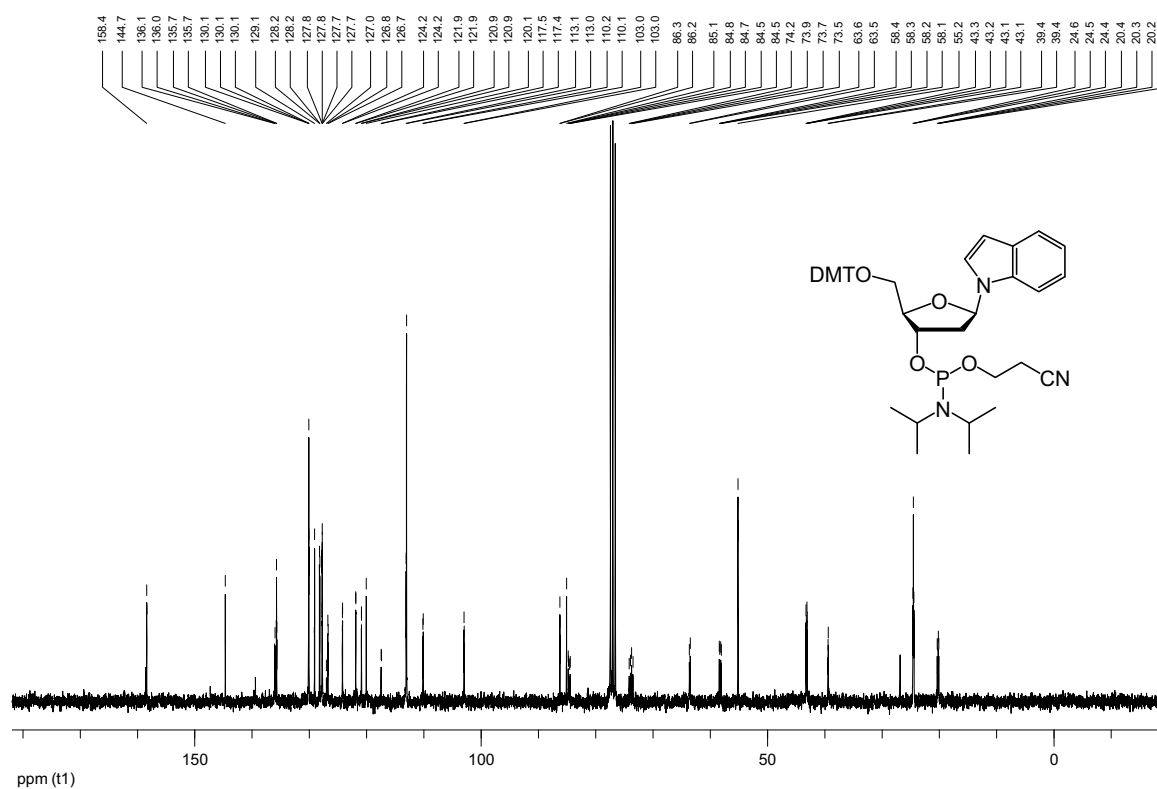
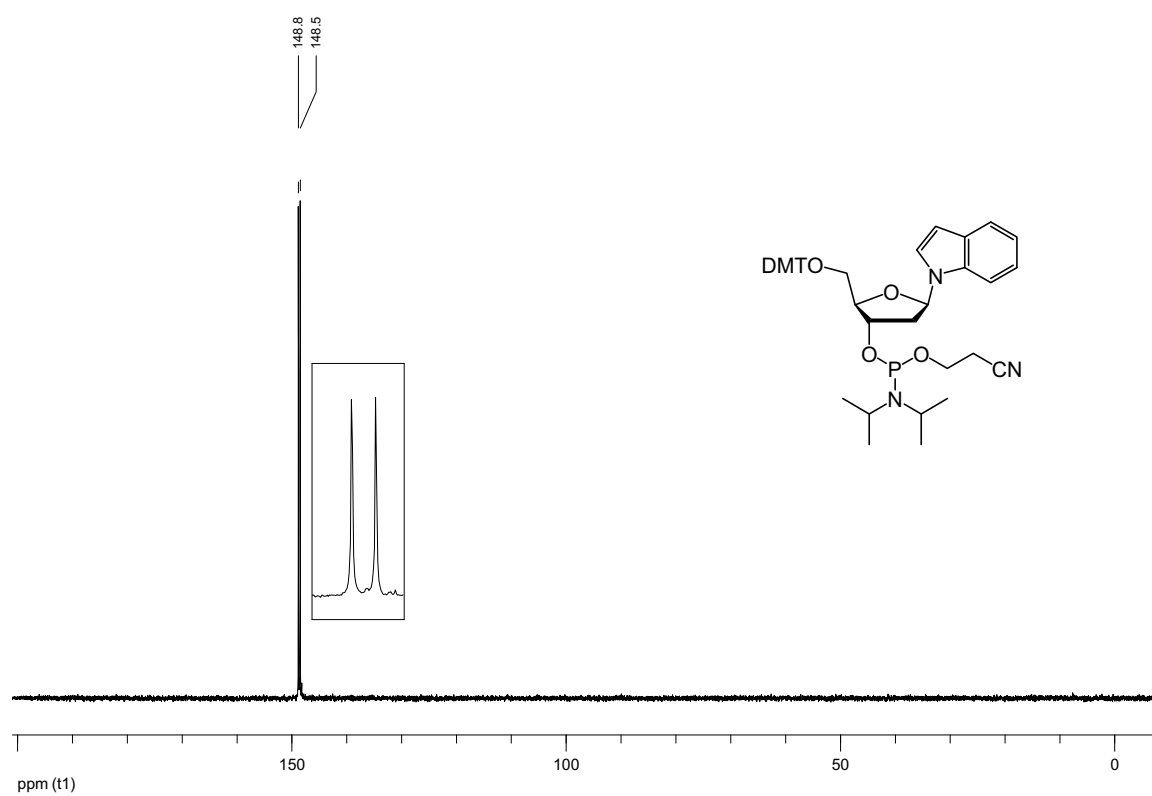
$^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz; CDCl_3)



^{31}P -NMR (121.5 MHz; CDCl_3)

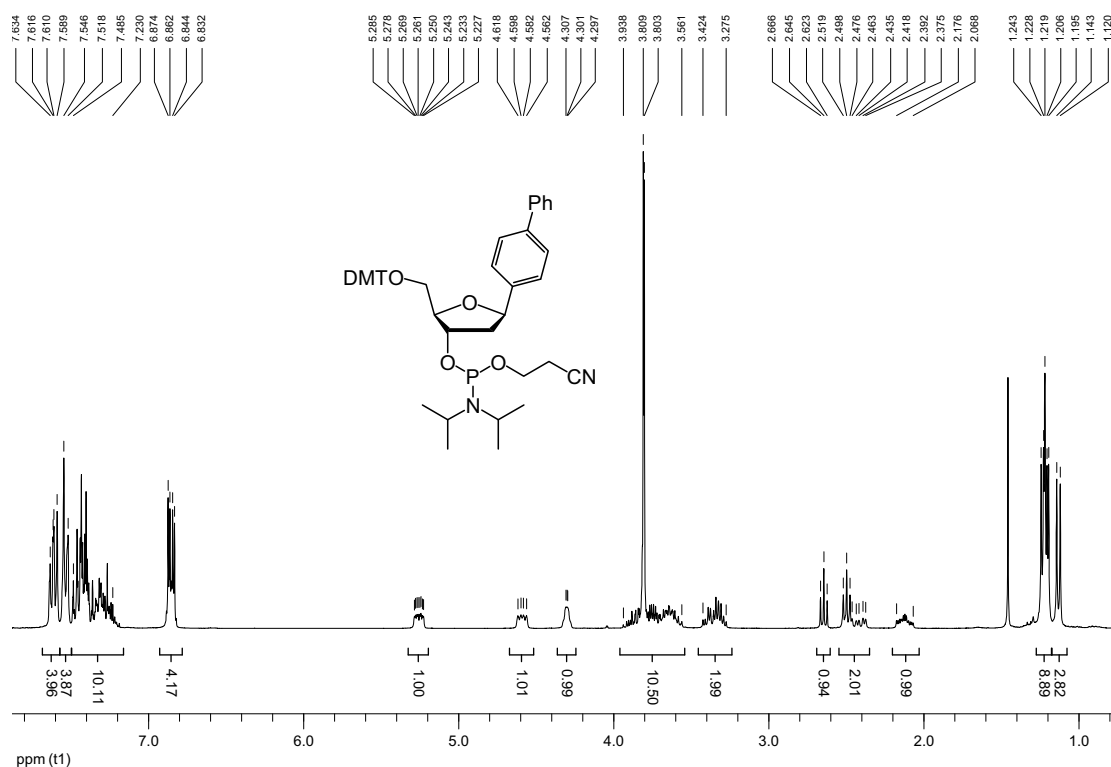
5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(1-indolyl)ribofuranose-3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-N,N'-diisopropylphosphoramidit] 147t

 ^1H -NMR (300 MHz; CDCl_3)

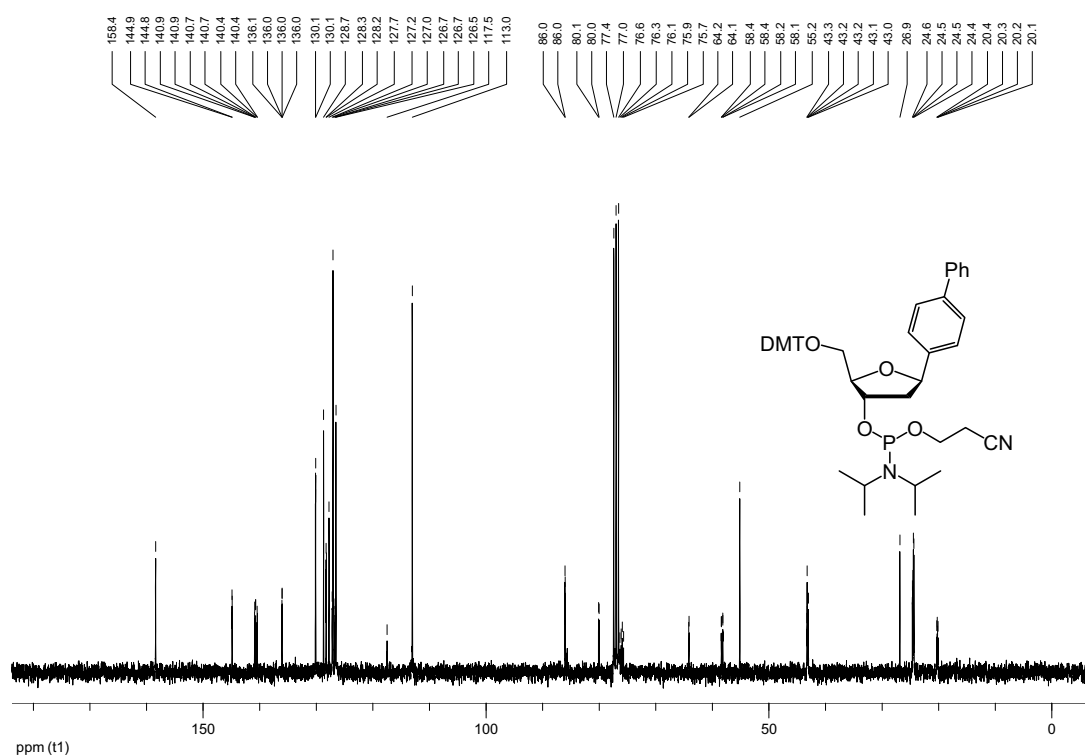
^{13}C -NMR (75.5 MHz; CDCl_3) ^{31}P -NMR (121.5 MHz; CDCl_3)

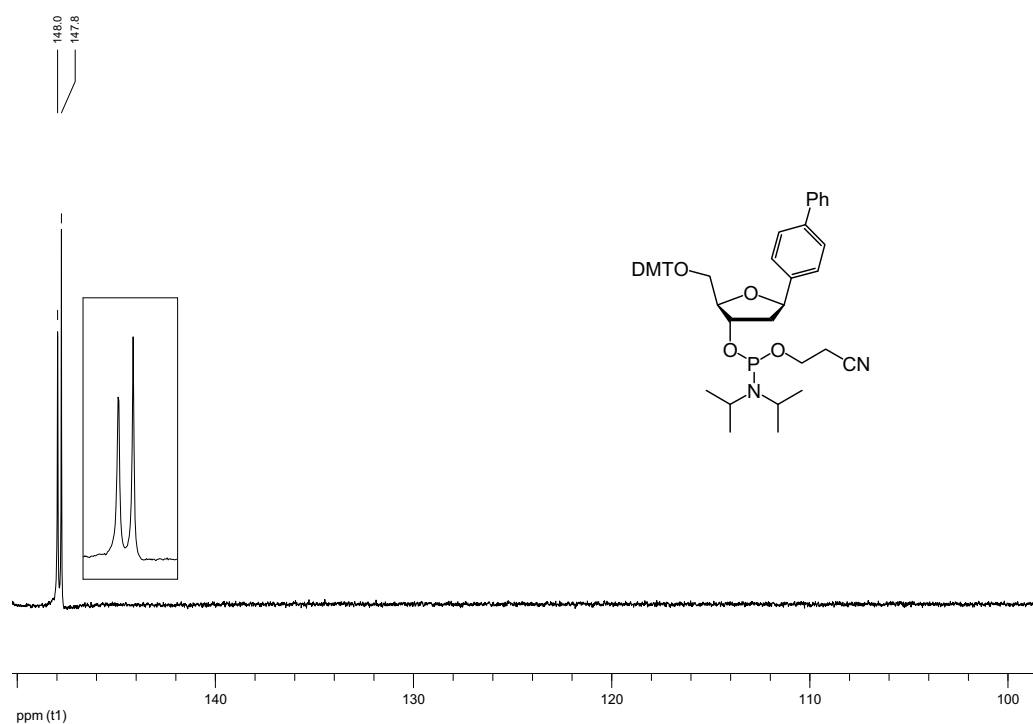
5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)- β -1',2'-dideoxy-1'-(4-biphenyl)ribofuranose-3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-N,N'-diisopropylphosphoramidit] 147u

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; CDCl_3)

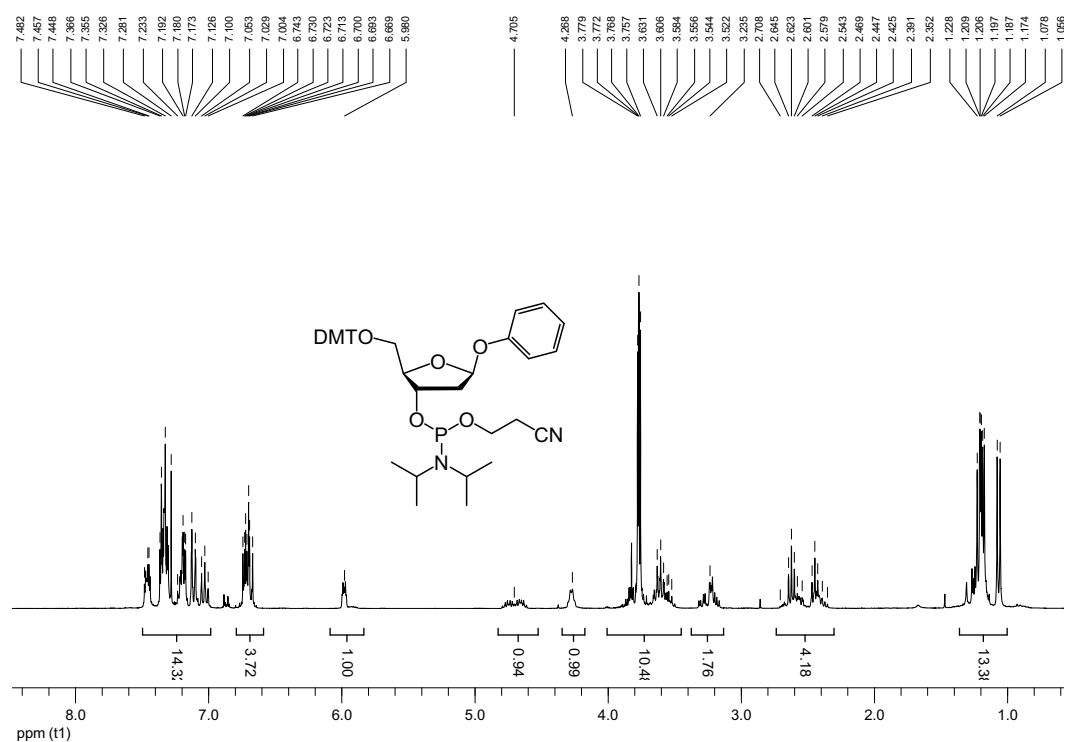


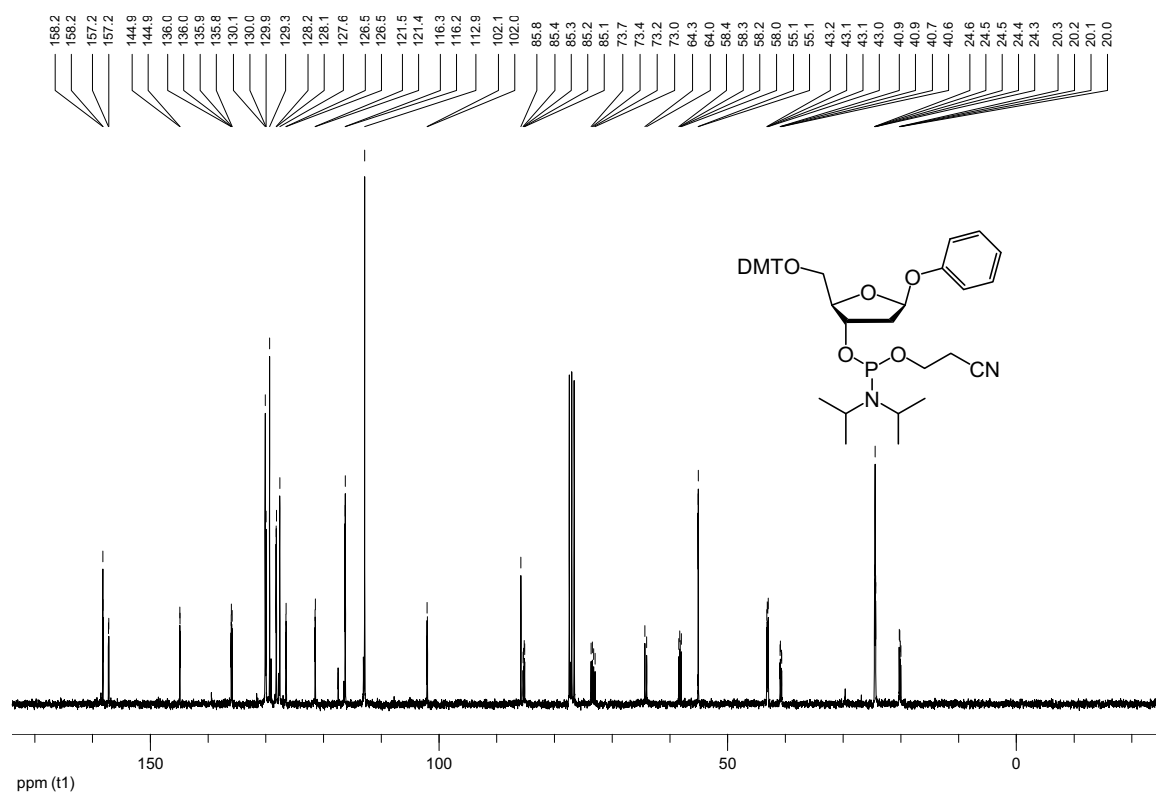
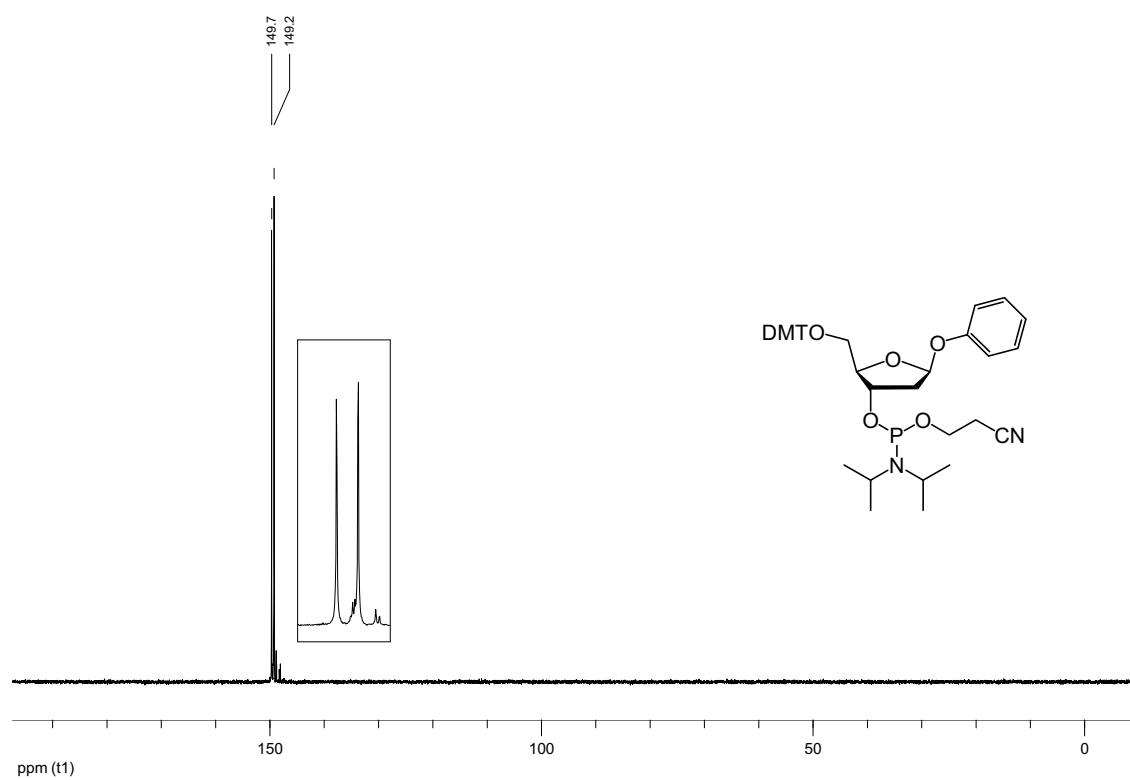
$^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz; CDCl_3)

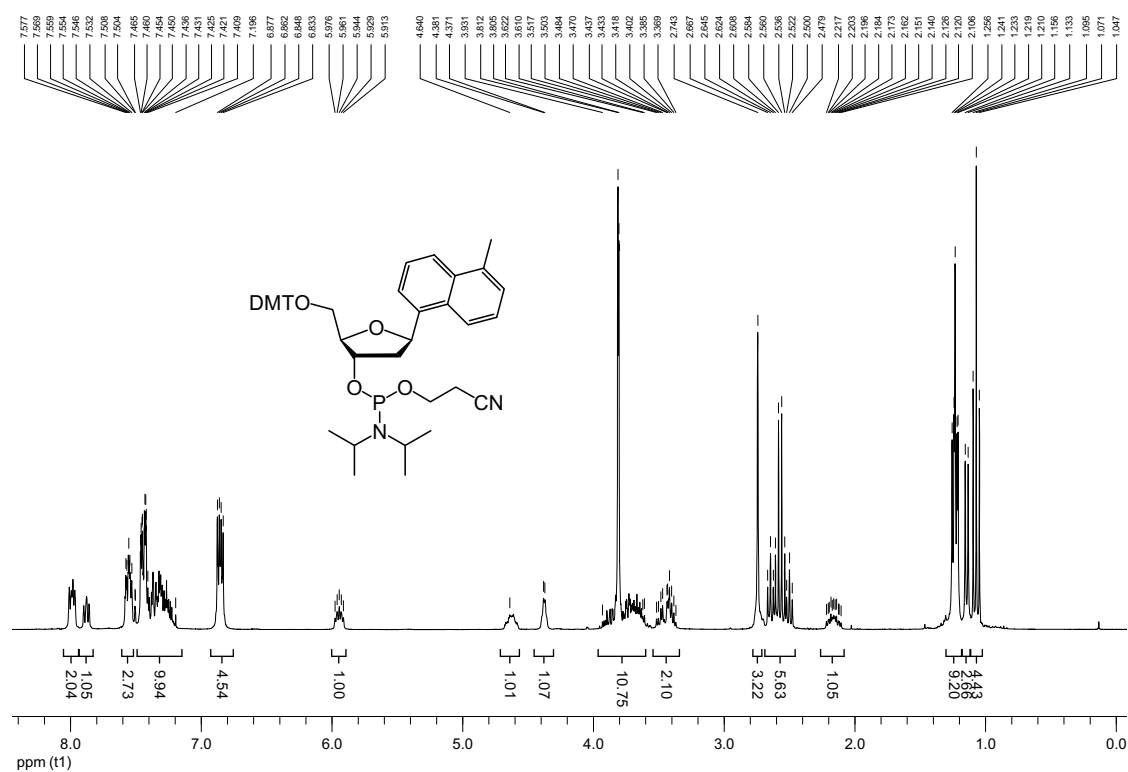
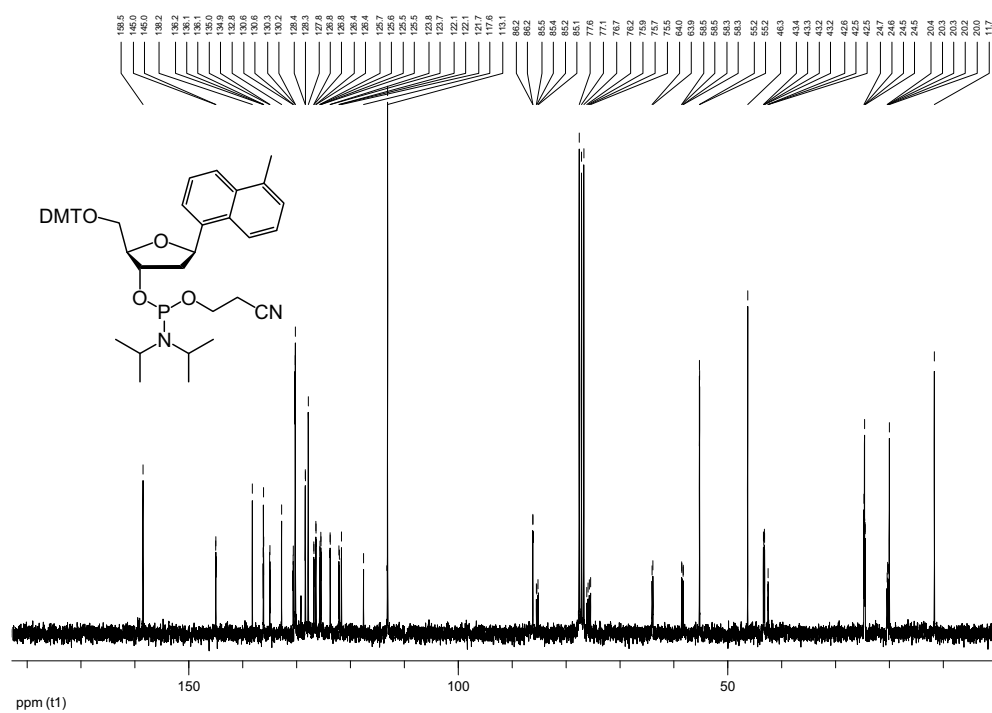


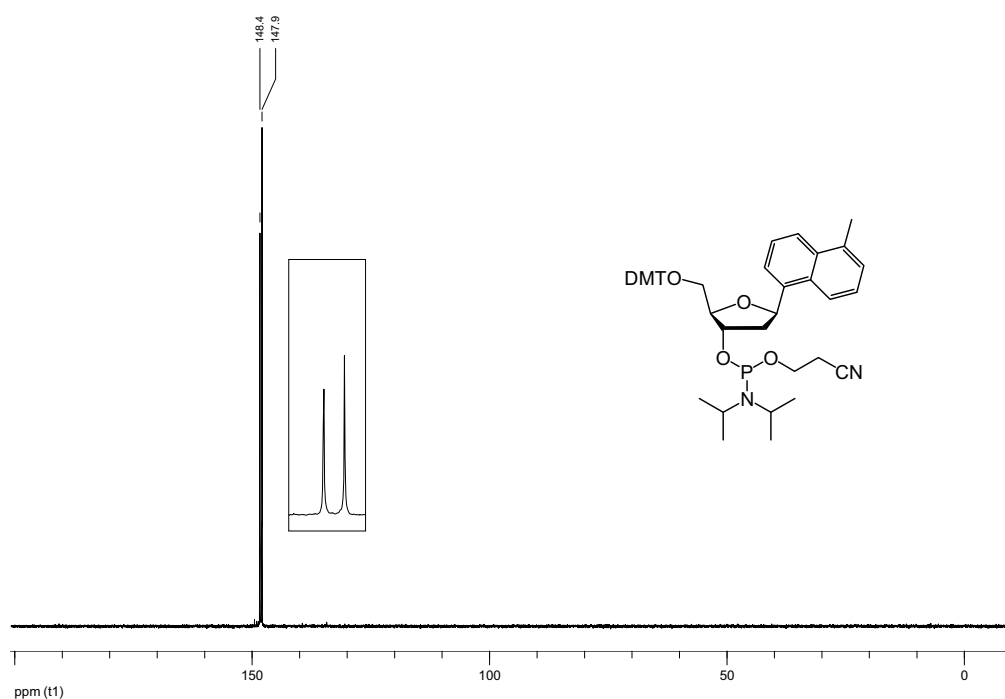
³¹P-NMR (121.5 MHz; CDCl₃)

5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-β-1',2'-dideoxy-1'-phenyloxoribofuranose-3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-N,N'-diisopropylphosphoramidit] 147v

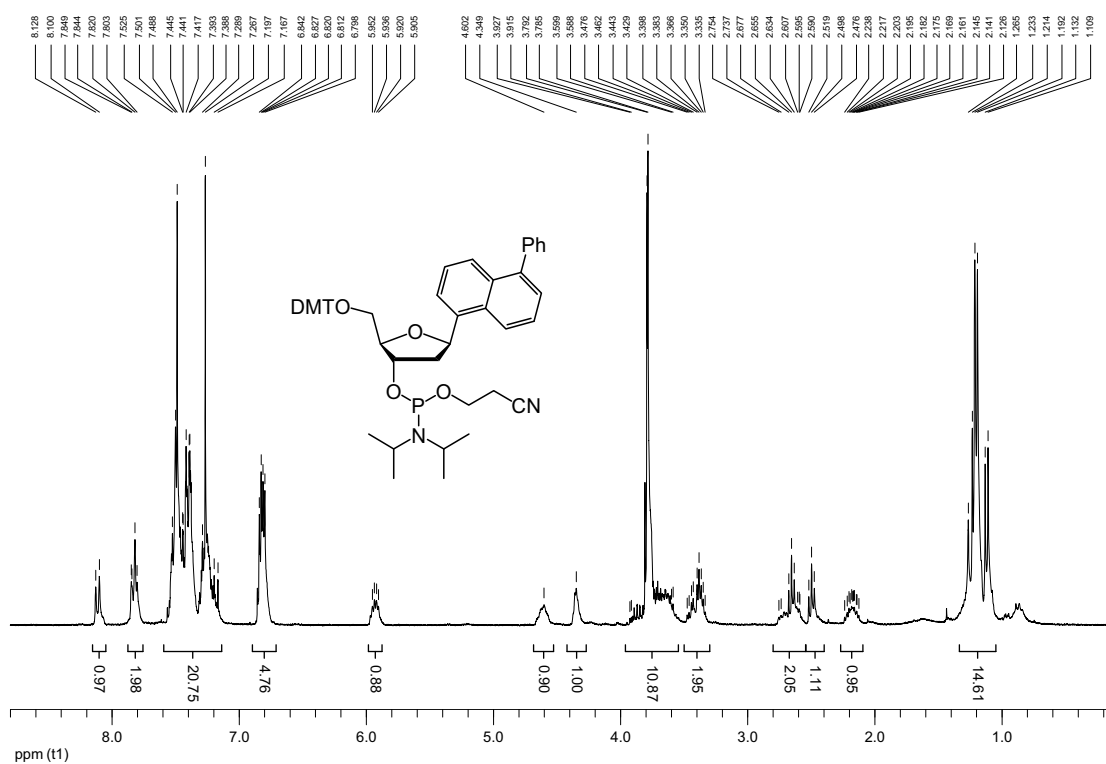
¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)

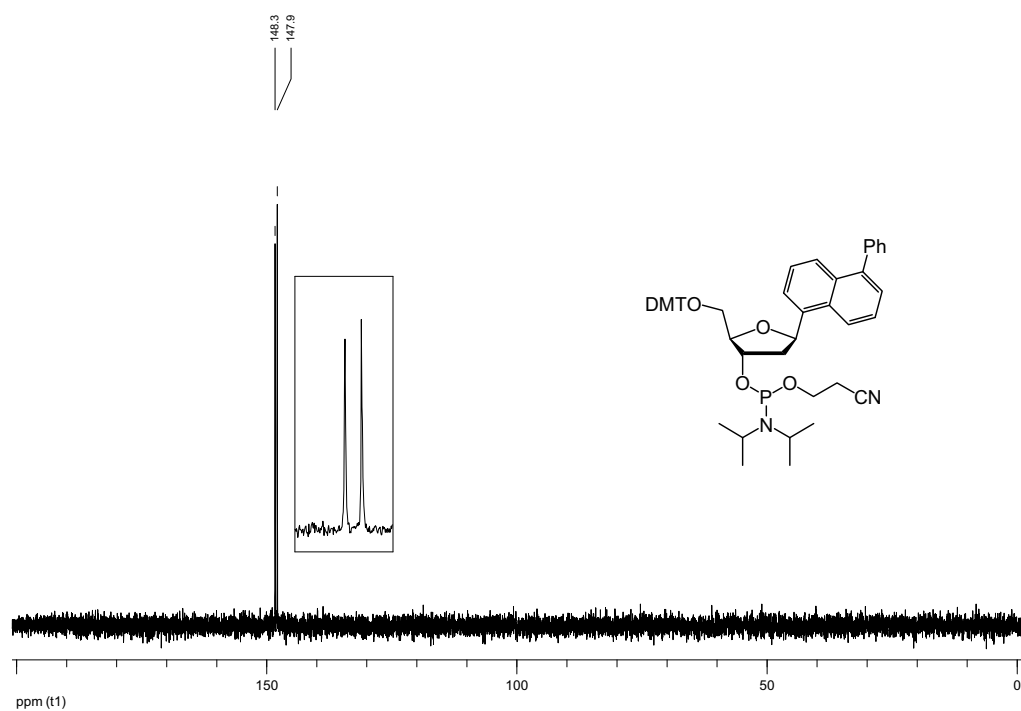
^{13}C -NMR (75.5 MHz; CDCl_3) ^{31}P -NMR (121.5 MHz; CDCl_3)

¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)¹³C-NMR (75.5 MHz; CDCl₃)

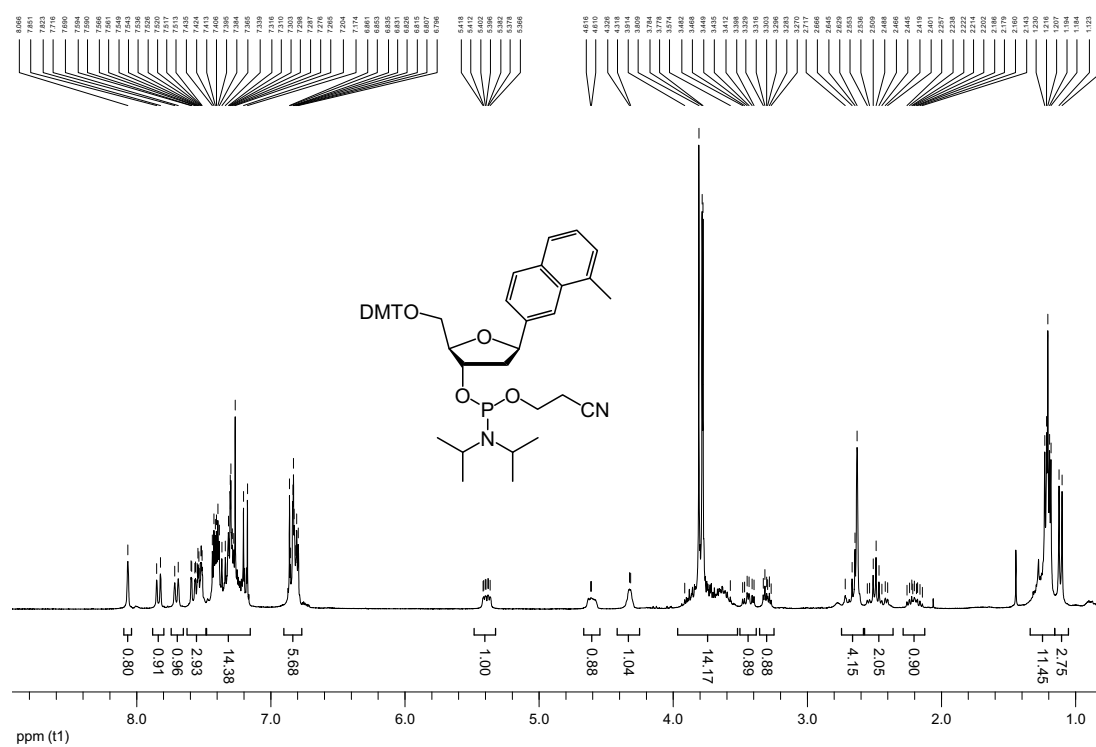
³¹P-NMR (121.5 MHz; CDCl₃)

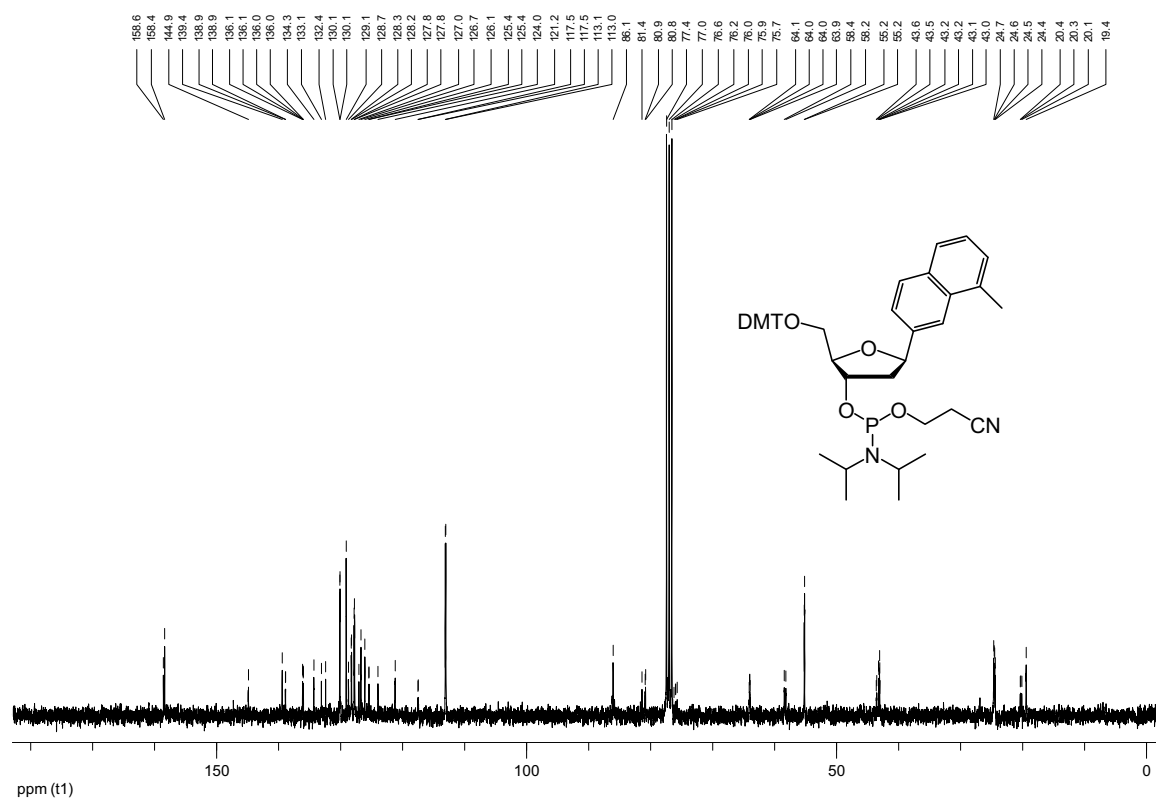
5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-β-1',2'-dideoxy-1'-(1-(5-phenyl)naphthyl)ribofuranose-3'-O-[O-(2-cyanoethyl)-N,N'-diisopropylphosphoramidite] 147x

¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)

³¹P-NMR (121.5 MHz; CDCl₃)

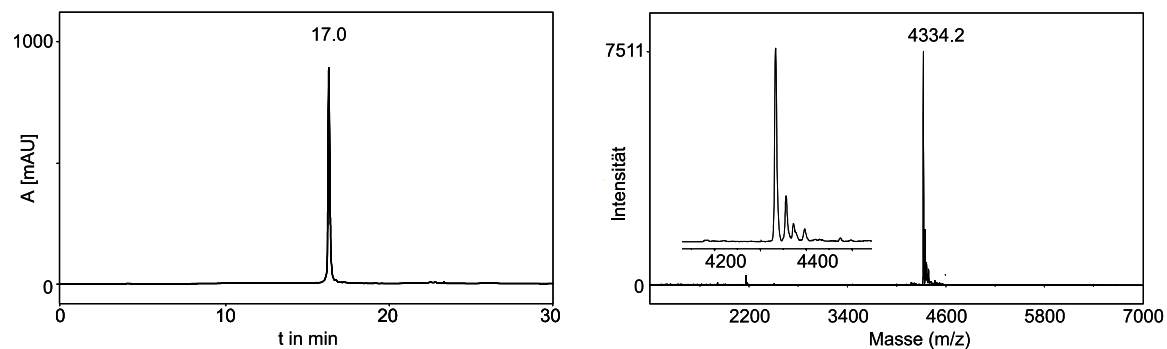
5'-*O*-(4,4'-Dimethoxytrityl)-β-1',2'-dideoxy-1'-(2-(7-methyl)naphthyl)ribofuranose-3'-*O*-[*O*-(2-cyanoethyl)-*N,N'*-diisopropylphosphoramidit] 147y

¹H-NMR (300 MHz; CDCl₃)

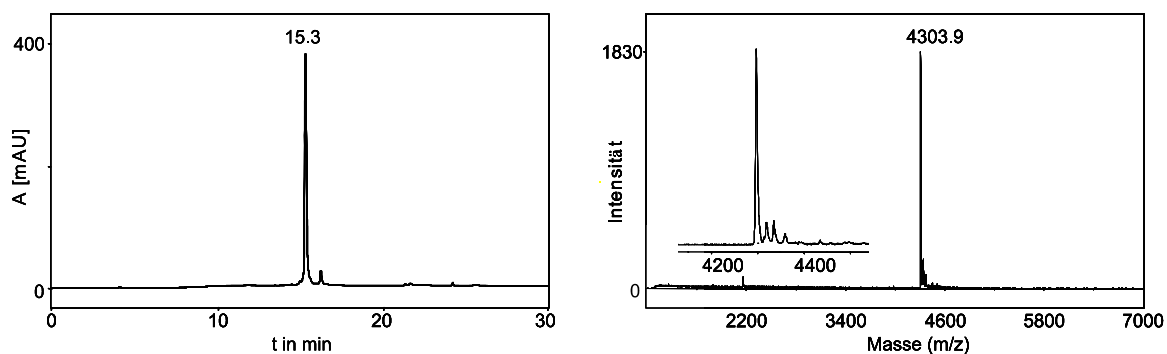
^{13}C -NMR (75.5 MHz; CDCl_3)

8.2 Chromatogramme und MALDI-TOF-Spektren der Oligonucleotide

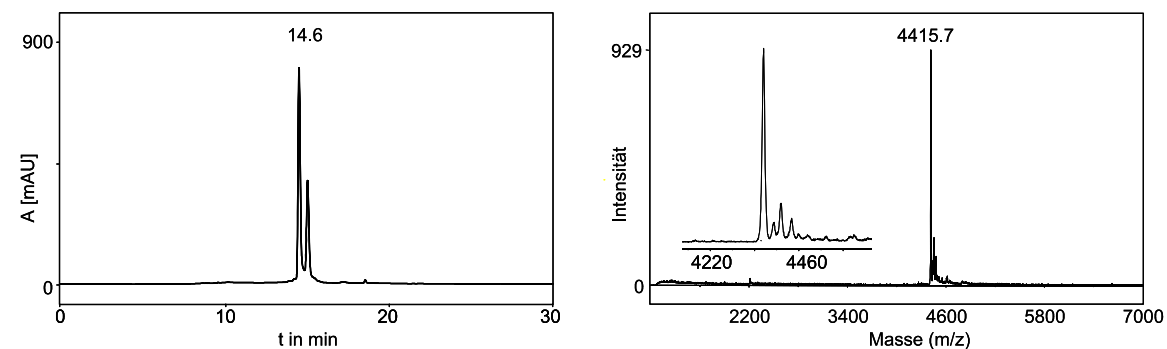
5'-CGGCA-(1-Phenanthrenyl)dRib-CGAGCGGC-3' 148a:

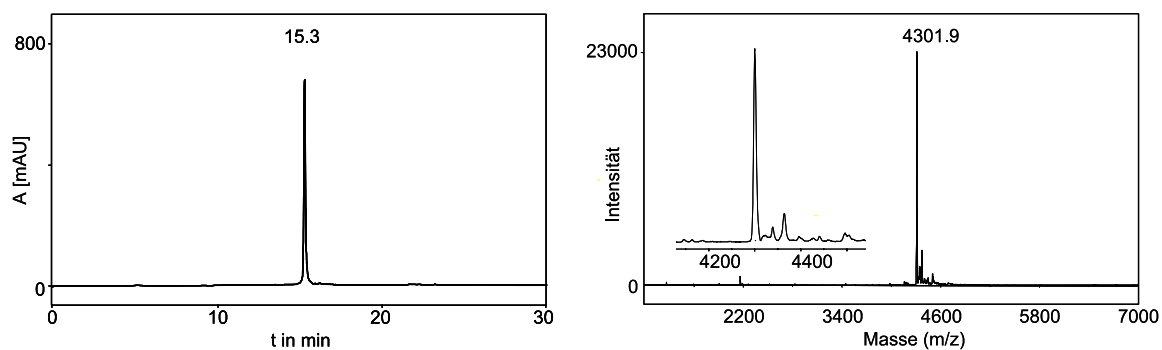
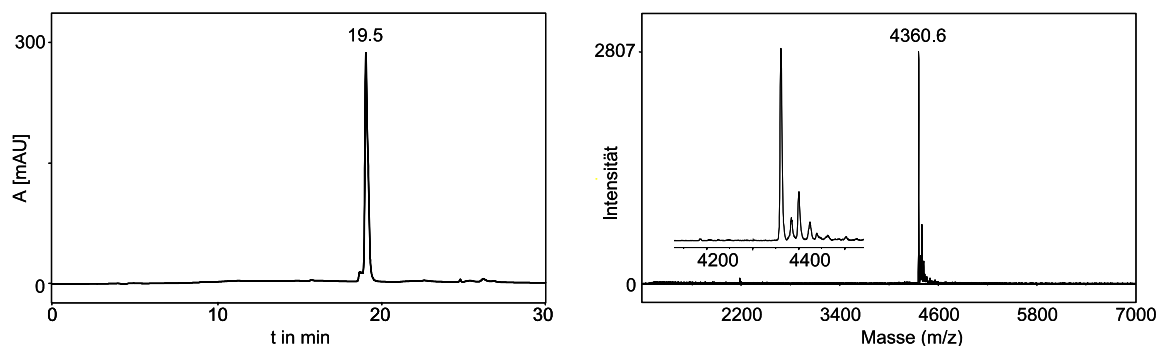
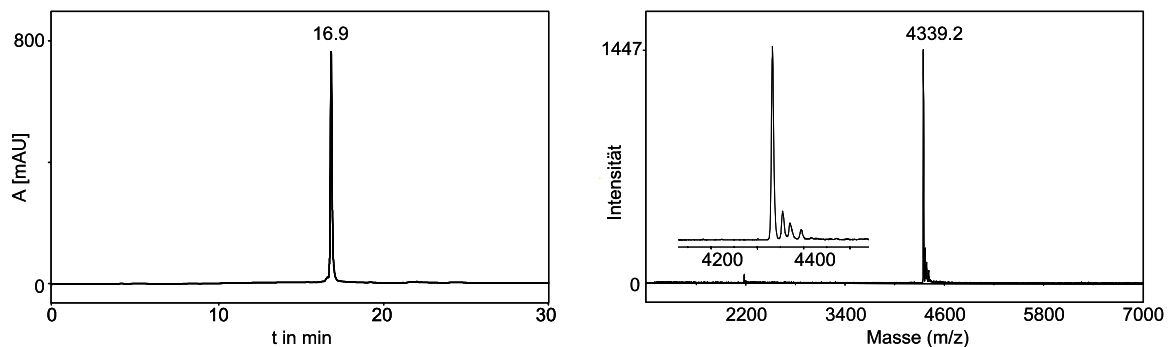
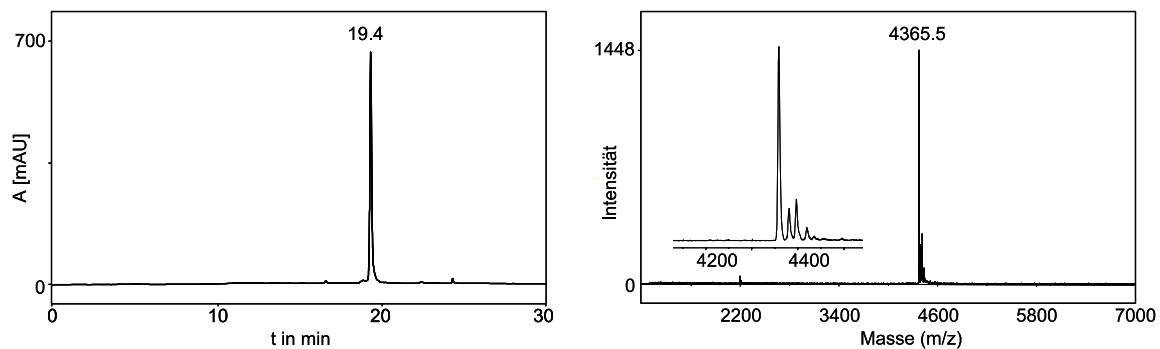


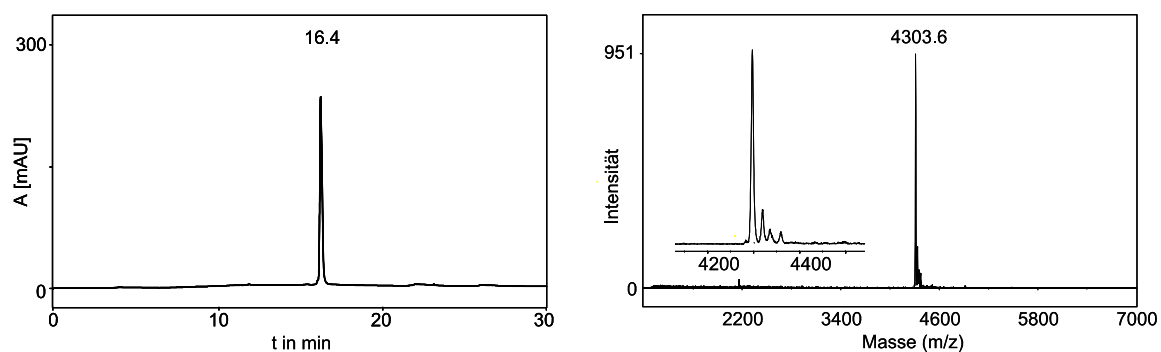
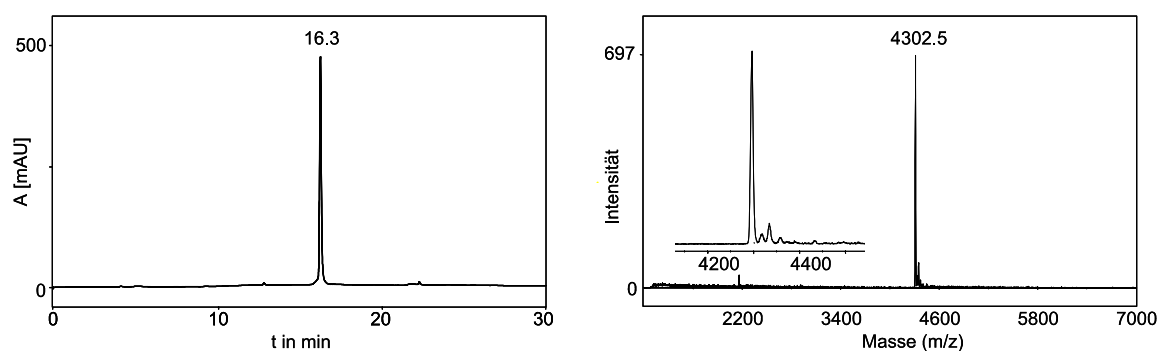
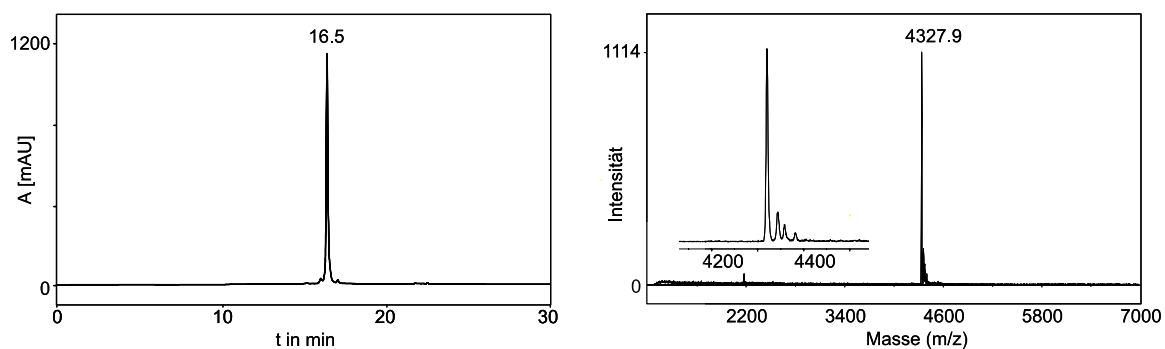
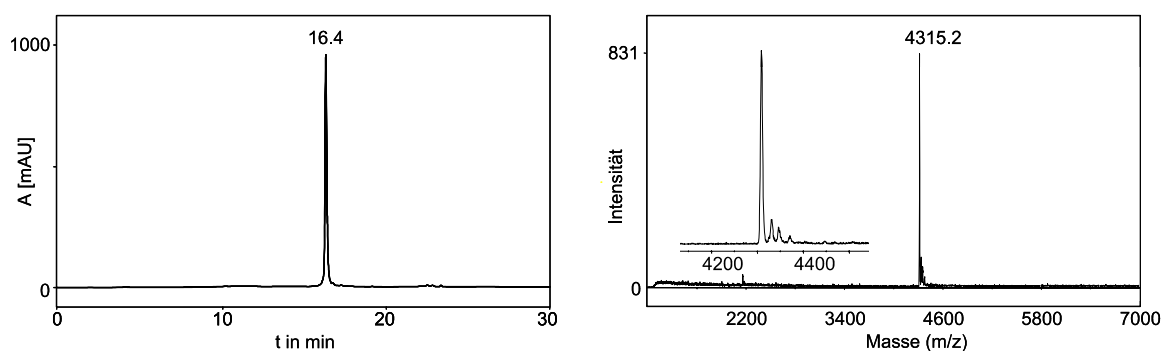
5'-CGGCA-(1-(4-Methyl)naphthyl)dRib-CGAGCGGC-3' 148b:

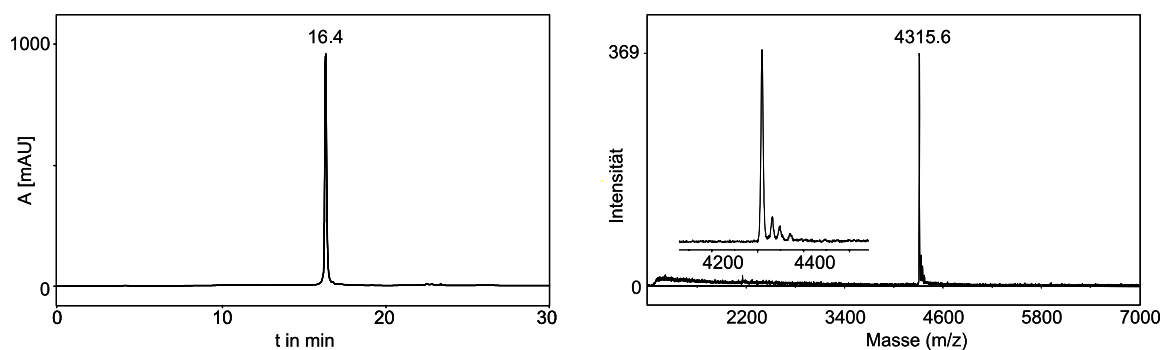
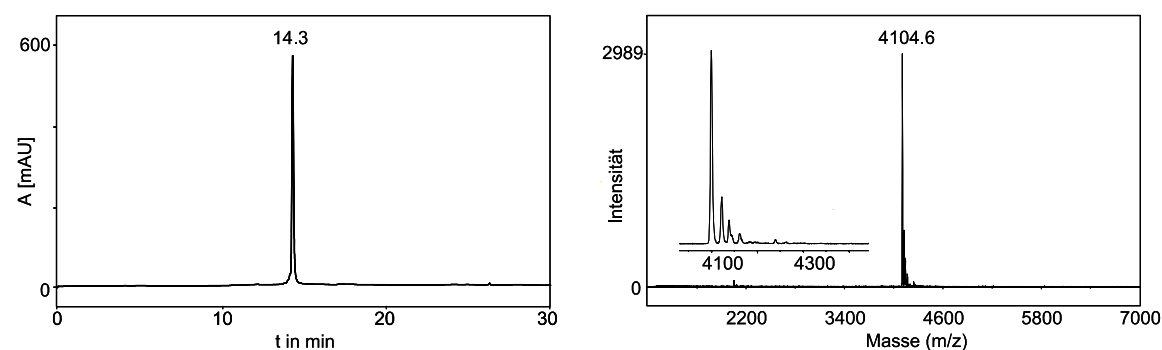
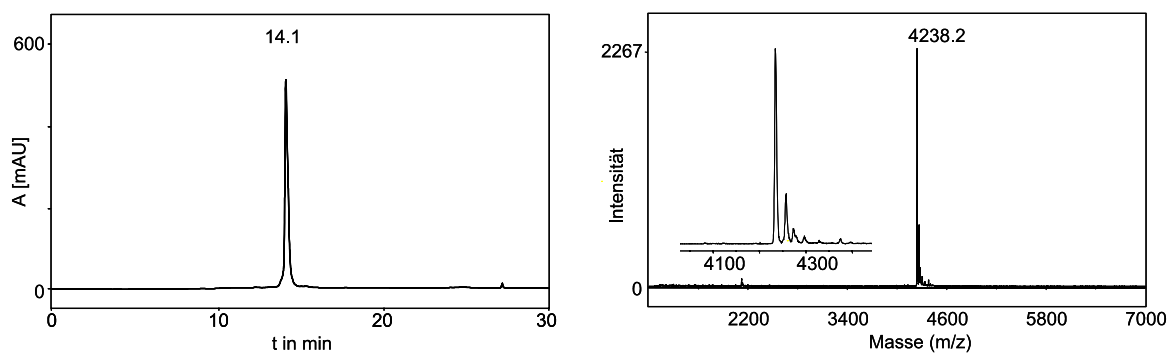
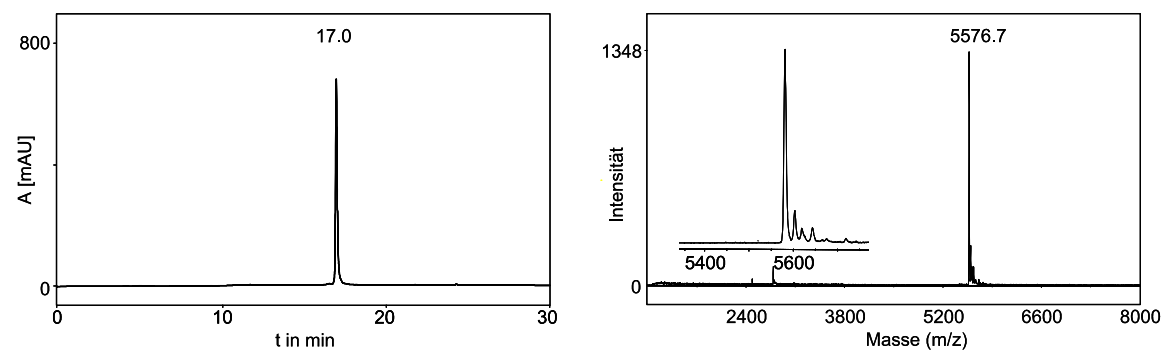


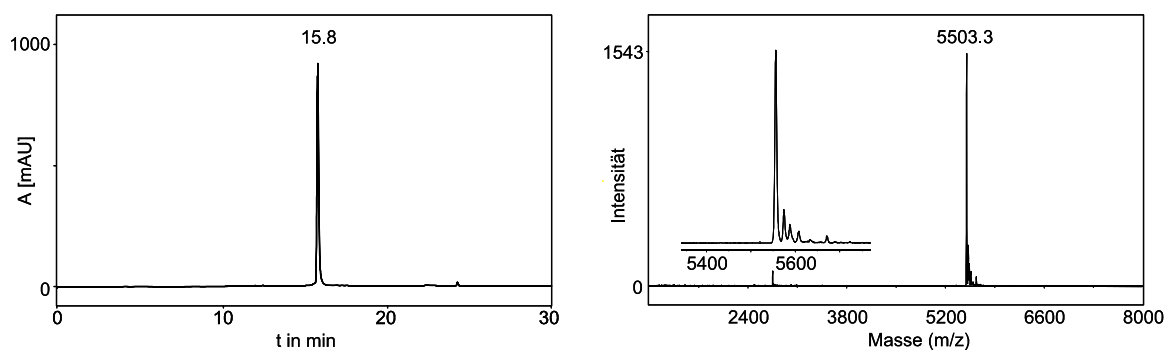
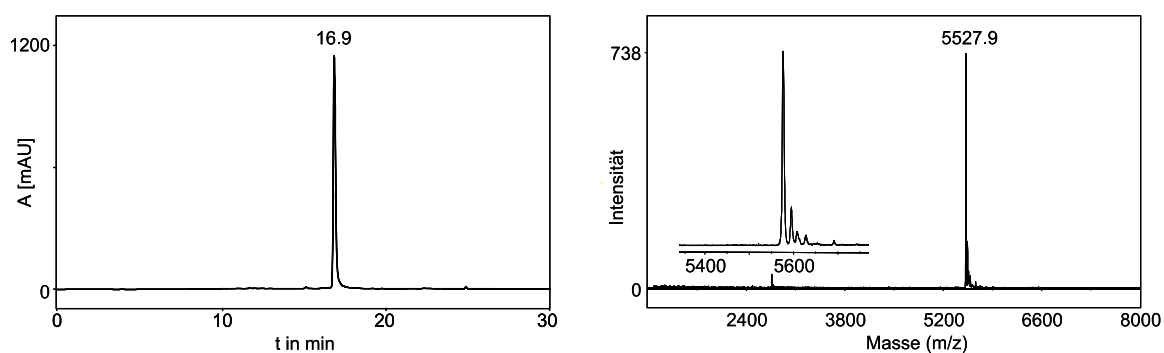
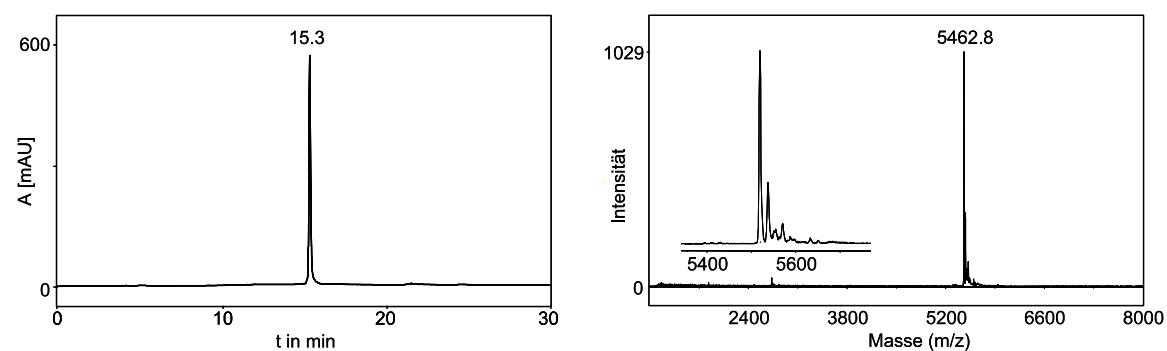
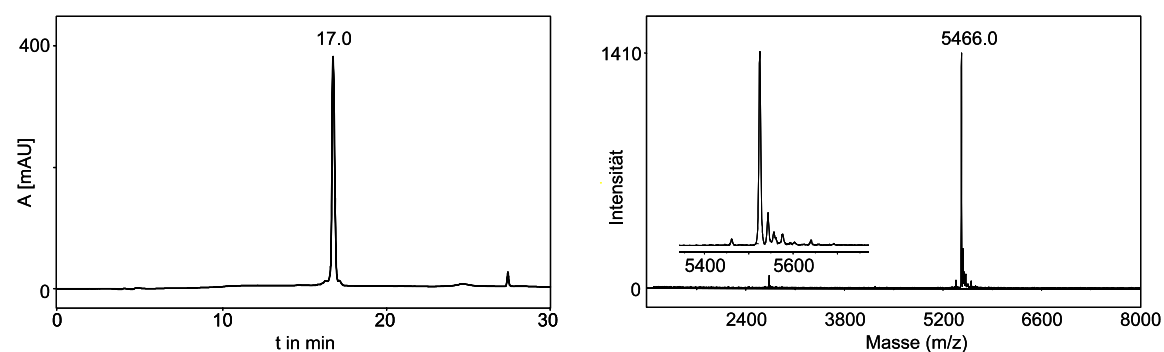
5'-CGGCA-(4-(1,1'-Binaphthyl))dRib-CGAGCGGC-3' 148c/164b:

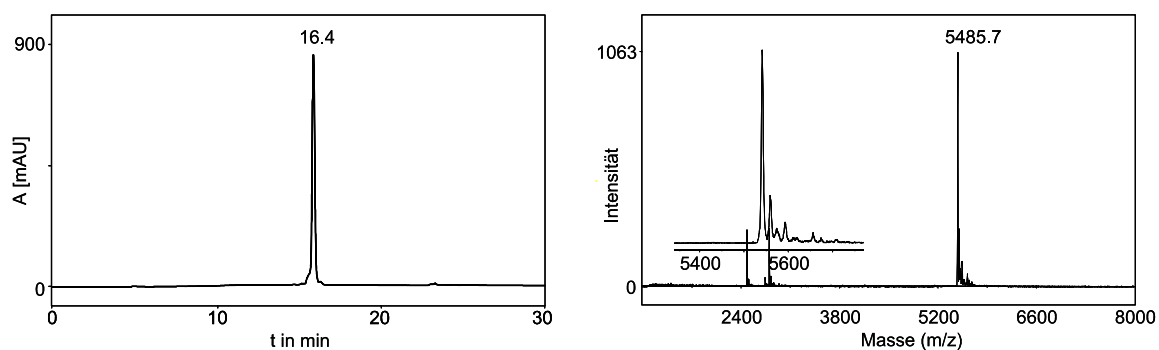
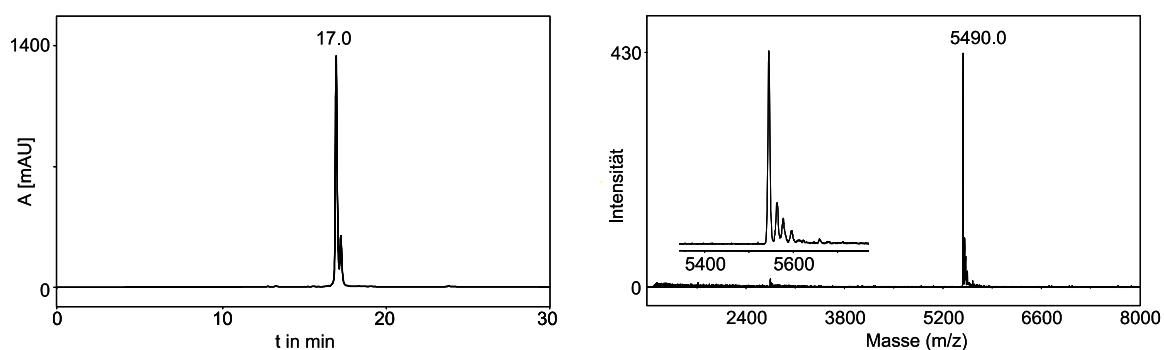
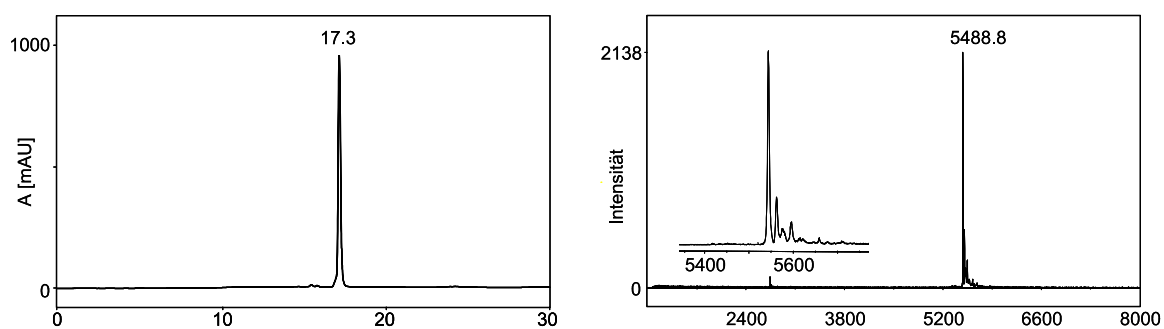
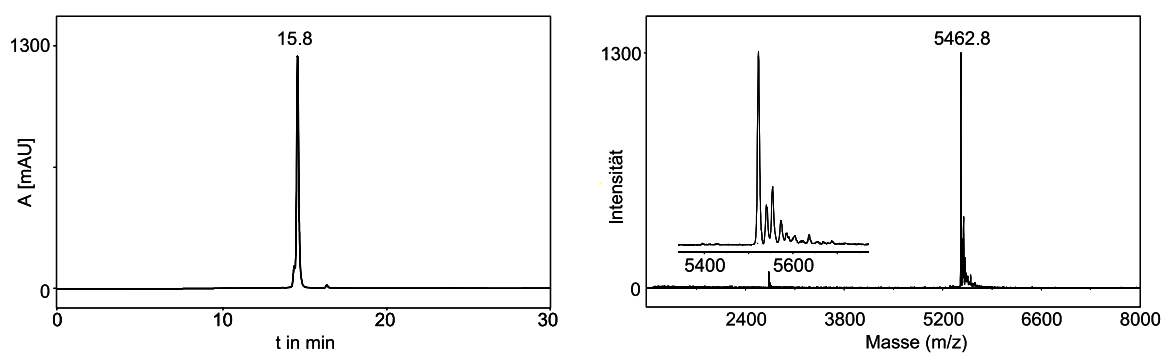


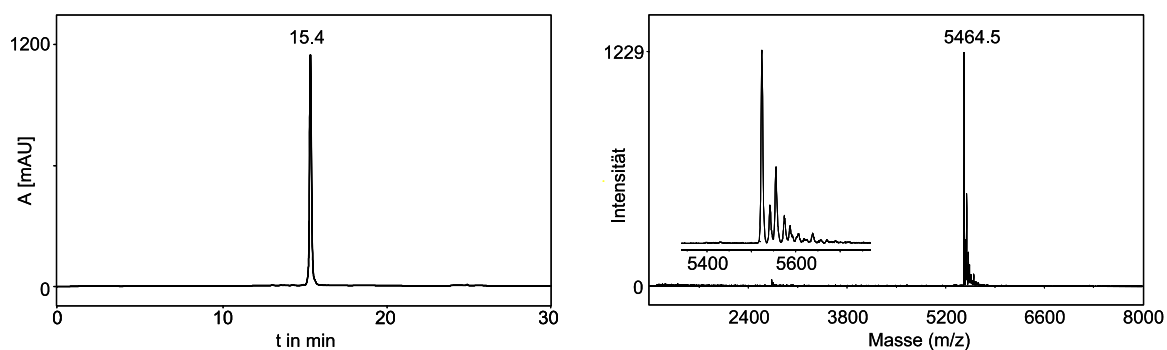
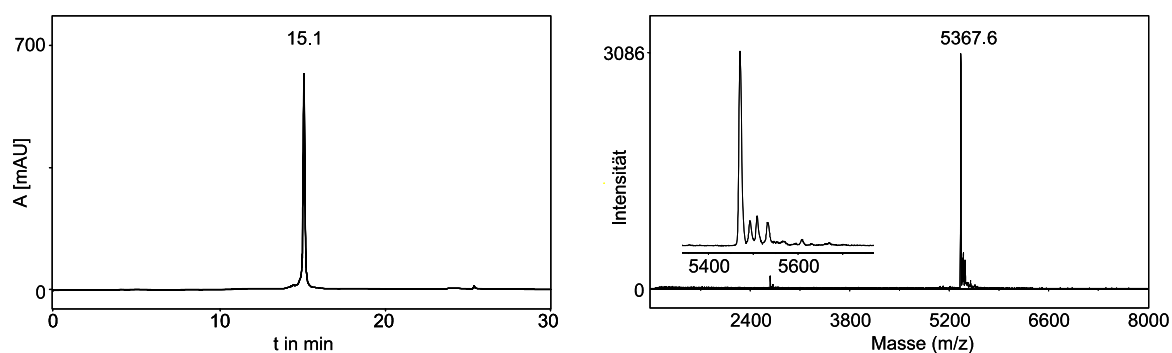
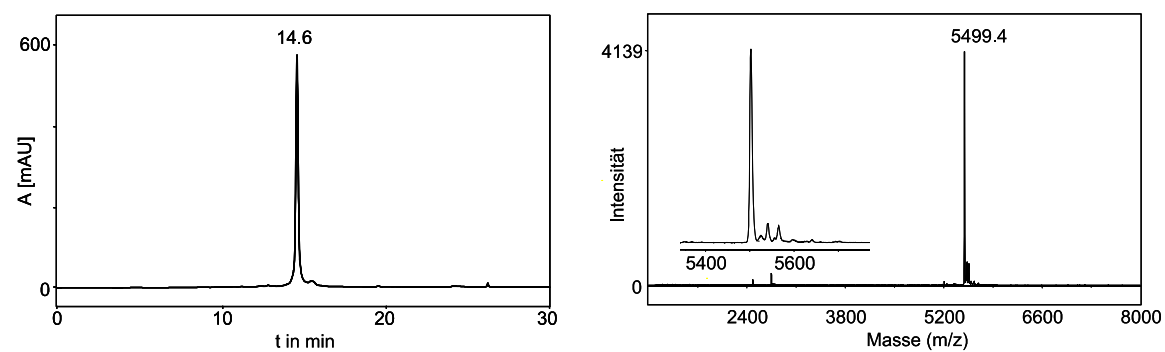
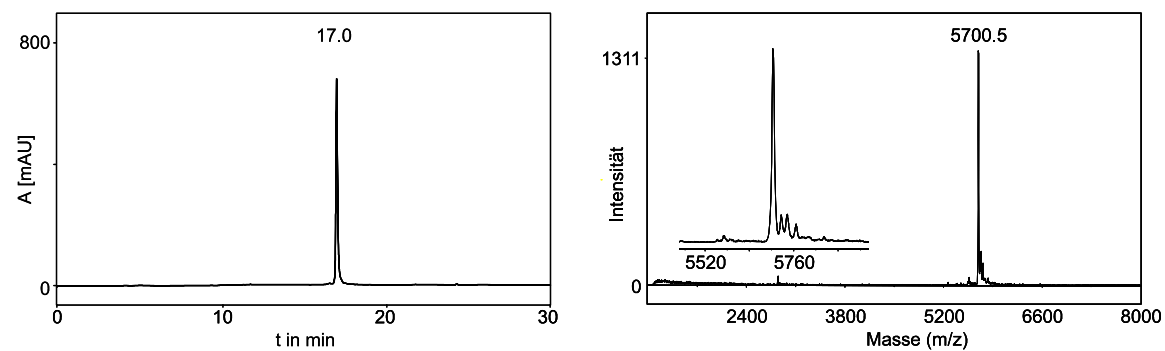
5'-CGGCA-(1-(5-Methyl)naphthyl)dRib-CGAGCGGC-3' 148d:**5'-CGGCCA-(1-(5-Phenyl)naphthyl)dRib-CGAGCGGC-3' 148e:****5'-CGGCA-(3-Phenanthrenyl)dRib-CGAGCGGC-3' 148f:****5'-CGGCA-(2-(7-Phenyl)naphthyl)dRib-CGAGCGGC-3' 148g:**

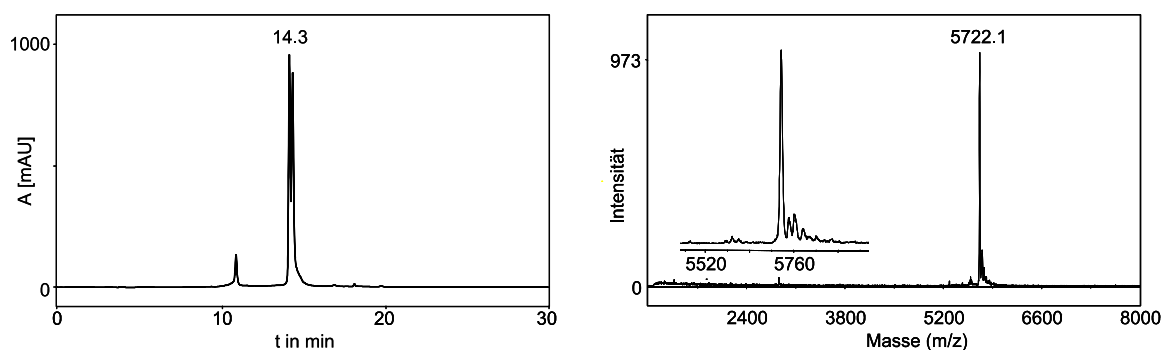
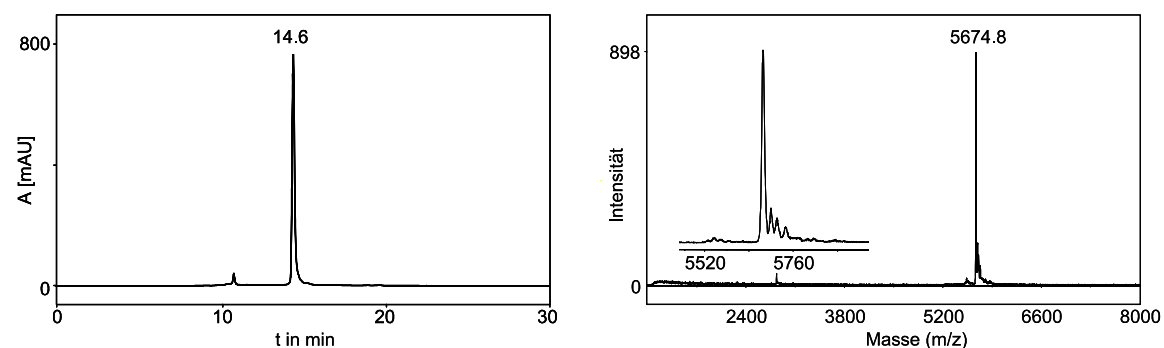
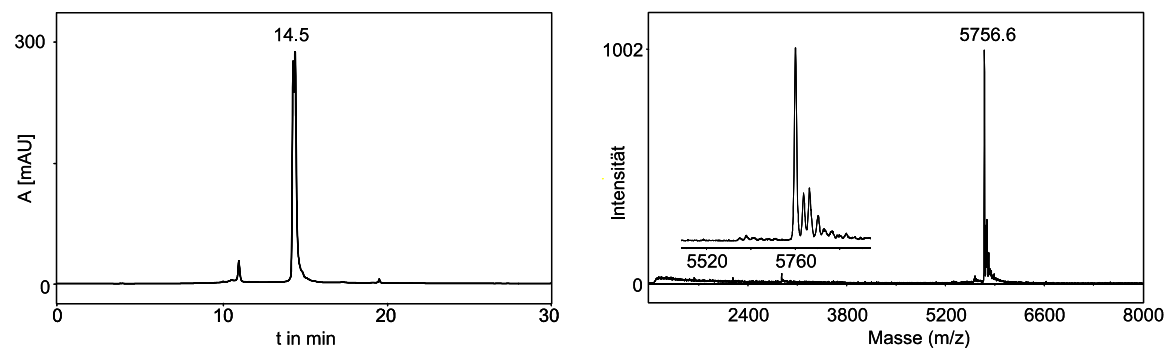
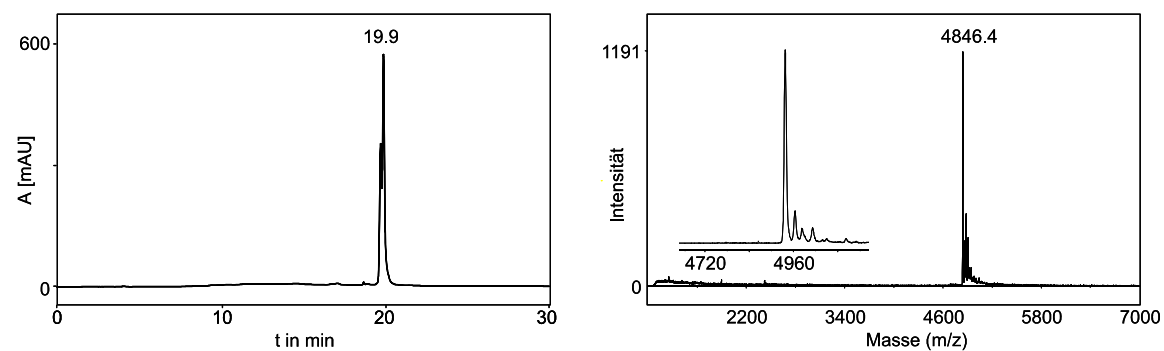
5'-CGGCA-(2-(7-Methyl)naphthyl)dRib-CGAGCGGC-3' 148h:**5'-CGGCA-(2-(8-Methyl)naphthyl)dRib-CGAGCGGC-3' 148i:****5'-CGGCA-(2-Fluorenyl)dRib-CGAGCGGC-3' 148j:****5'-CGGCA-(2-Biphenyl)dRib-CGAGCGGC-3' 148k:**

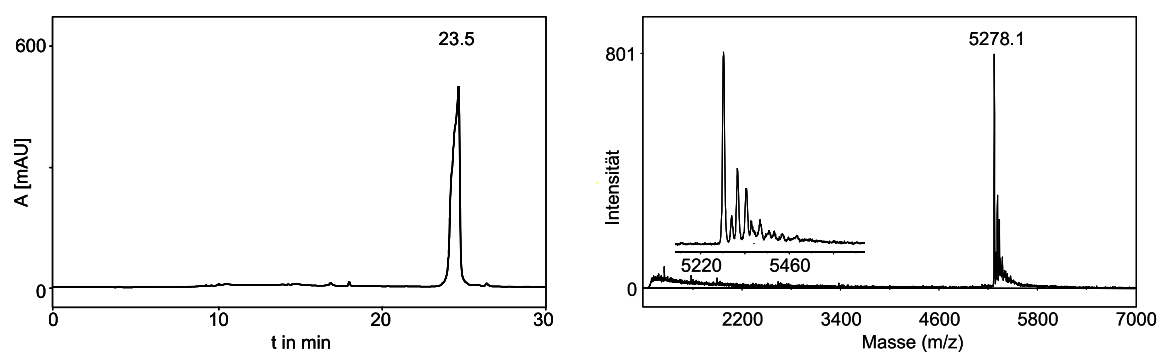
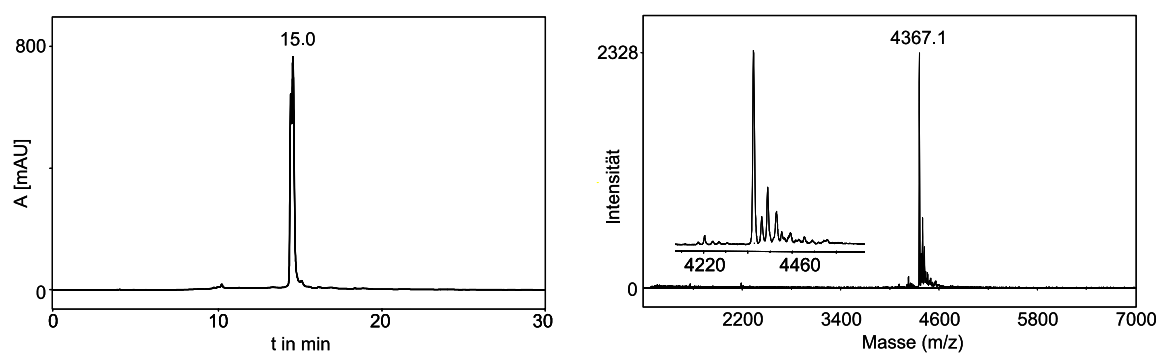
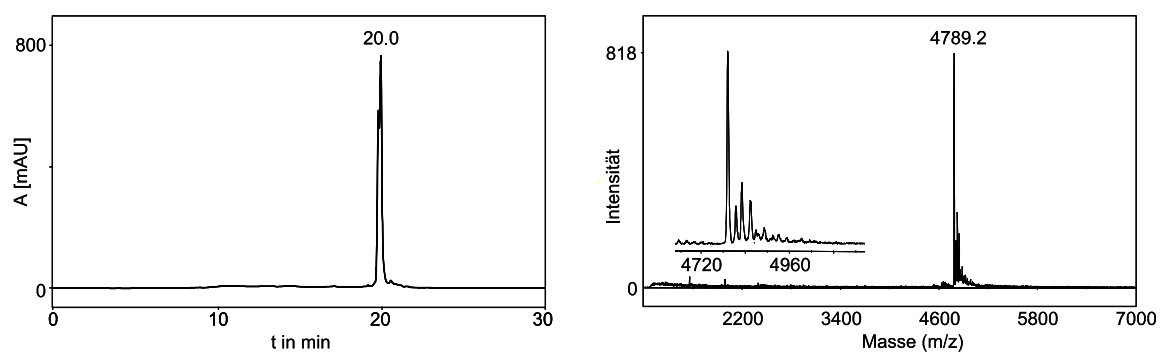
5'-CGGCA-(3-Biphenyl)dRib-CGAGCGGC-3' 148l:**5'-GCCGCTCG-dSpacer-TGCCG-3' 149H:****5'-GCCGCTCG-2-Aminopurin(dRib)-TGCCG-3' 149Ap:****5'-CGTCTTAG^{Me}A-(1-Pyrenyl)dRib-CCGTGAGC-3' 150a:**

5'-CGTCTTAG^{Me}A-(2-Naphthyl)dRib-CCGTGAGC-3' 150b:**5'-CGTCTTAG^{Me}A-(4-Biphenyl)dRib-CCGTGAGC-3' 150c:****5'-CGTCTTAG^{Me}A-(1-(3-Methyl)phenyl)dRib-CCGTGAGC-3' 150d:****5'-CGTCTTAG^{Me}A-(Phenyloxy)dRib-CCGTGAGC-3' 150e:**

5'-CGTCTTAG^{Me}A-(1-Indolyl)dRib-CCGTGAGC-3' 150f:**5'-CGTCTTAG^{Me}A-(β -3-Indolyl)dRib-CCGTGAGC-3' 150g:****5'-CGTCTTAG^{Me}A-(α -3-Indolyl)dRib-CCGTGAGC-3' 150h:****5'-CGTCTTAG^{Me}A-(β -4-Phenolyl)dRib-CCGTGAGC-3' 150i:**

5'-CGTCTTAG^{Me}A-(α -4-Phenolyl)dRib-CCGTGAGC-3' 150j:**5'-GCTCACGG-dSpacer-TCTAAGACG-3' 151H:****5'-GCTCACGG-2-Aminopurin(dRib)-TCTAAGACG-3' 151Ap:****5'-TAGTTCT-B-TGAGAAGGTG-3' B = (4-(1,1'-Binaphthyl))dRib 155B:**

5'-TAGTTCA-B-AGAGAAGGTG-3' B = (4-(1,1'-Binaphthyl))dRib 156B:**5'-TAGTTCC-B-CGAGAAGGTG-3' B = (4-(1,1'-Binaphthyl))dRib 157B:****5'-TAGTTCCG-B-GGAGAAGGTG-3' B = (4-(1,1'-Binaphthyl))dRib 158B:****5'-CGGCCA-BB-CGAGCGGC-3' B = (4-(1,1'-Binaphthyl))dRib 164B₂:**

5'-CGGCCA-BBB-CGAGCGGC-3' B = (4-(1,1'-Binaphthyl))dRib 164B₃:**5'-GCCGCTCG-B-TGCCG-3' B = (4-(1,1'-Binaphthyl))dRib 165B:****5'-GCCGCTCG-BB-TGCCG-3' B = (4-(1,1'-Binaphthyl))dRib 165B₂:**

8.3 Fluoreszenzspektren

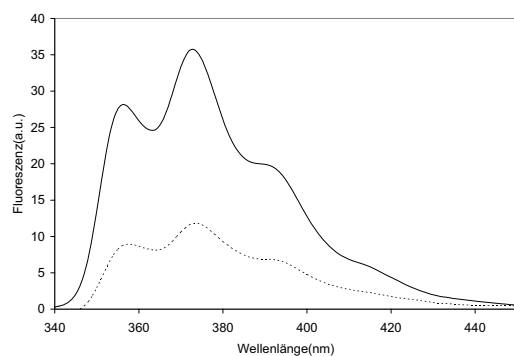


Abb.: Fluoreszenzspektrum des Oligonukleotides **148a** (Linie) und des Duplexes **148a•149A** (gestichelte Linie). Bedingungen: 1 mM, 0.1M NaCl, 10mM NaH₂PO₄, 15mM MgCl₂, pH7, 25°C, Anregung λ_{ex} = 305 nm.

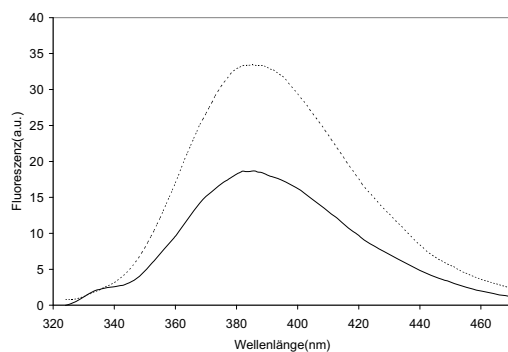


Abb.: Fluoreszenzspektrum des Oligonukleotides **148c** (Linie) und des Duplexes **148c•149A** (gestichelte Linie). Bedingungen: 1 mM, 0.1M NaCl, 10mM NaH₂PO₄, 15mM MgCl₂, pH7, 25°C, Anregung λ_{ex} = 305 nm.

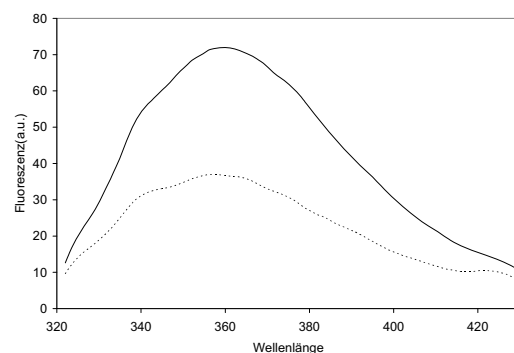


Abb.: Fluoreszenzspektrum des Oligonukleotides **148e** (Linie) und des Duplexes **148e•149A** (gestichelte Linie). Bedingungen: 1 mM, 0.1M NaCl, 10mM NaH₂PO₄, 15mM MgCl₂, pH7, 25°C, Anregung λ_{ex} = 230 nm.

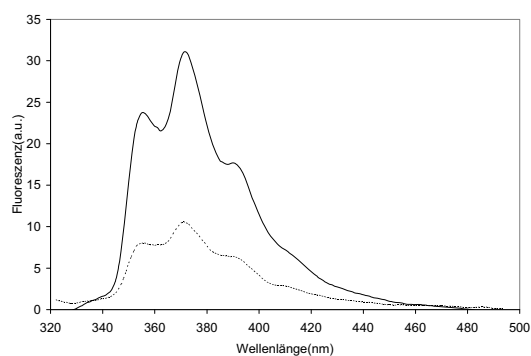


Abb.: Fluoreszenzspektrum des Oligonukleotides **148f** (Linie) und des Duplexes **148f-149A** (gestichelte Linie). Bedingungen: 1 mM, 0.1M NaCl, 10mM NaH₂PO₄, 15mM MgCl₂, pH7, 25°C, Anregung λ_{ex} = 305 nm.

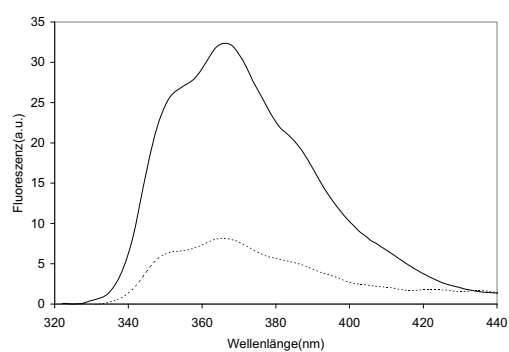


Abb.: Fluoreszenzspektrum des Oligonukleotides **148h** (Linie) und des Duplexes **148h-149A** (gestichelte Linie). Bedingungen: 1 mM, 0.1M NaCl, 10mM NaH₂PO₄, 15mM MgCl₂, pH7, 25°C, Anregung λ_{ex} = 260 nm.

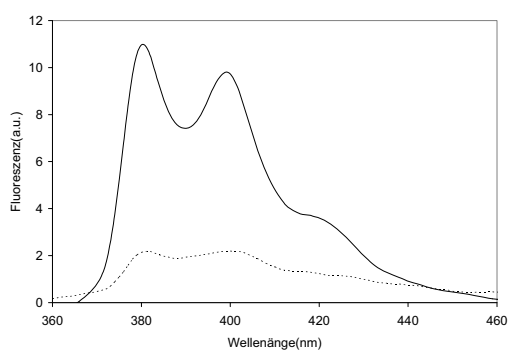


Abb.: Fluoreszenzspektrum des Oligonukleotides **150a** (Linie) und des Duplexes **150a-151A** (gestichelte Linie). Bedingungen: 1 mM, 0.1M NaCl, 10mM NaH₂PO₄, 15mM MgCl₂, pH7, 25°C, Anregung λ_{ex} = 305 nm.

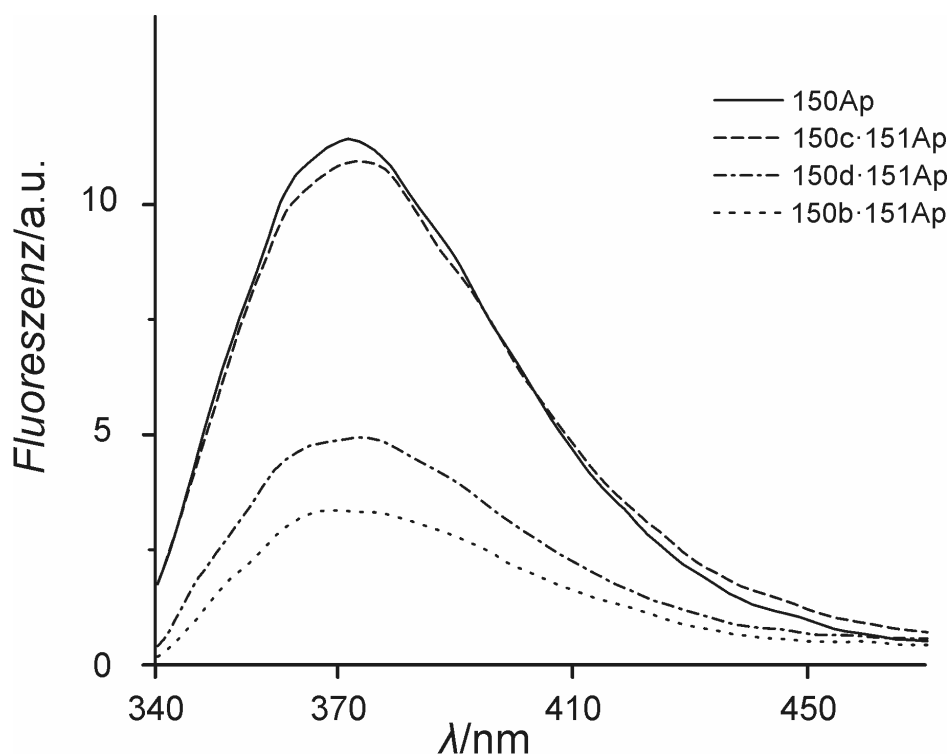


Abb.: 2-Aminopurin-Fluoreszenz des Oligonukleotides **151Ap** (Linie) und der Duplexe **150-151Ap**.
Bedingungen: 1 mM, 0.1M NaCl, 10mM NaH₂PO₄, 15mM MgCl₂, pH7, 25°C, Anregung $\lambda_{\text{ex}} = 305$ nm.

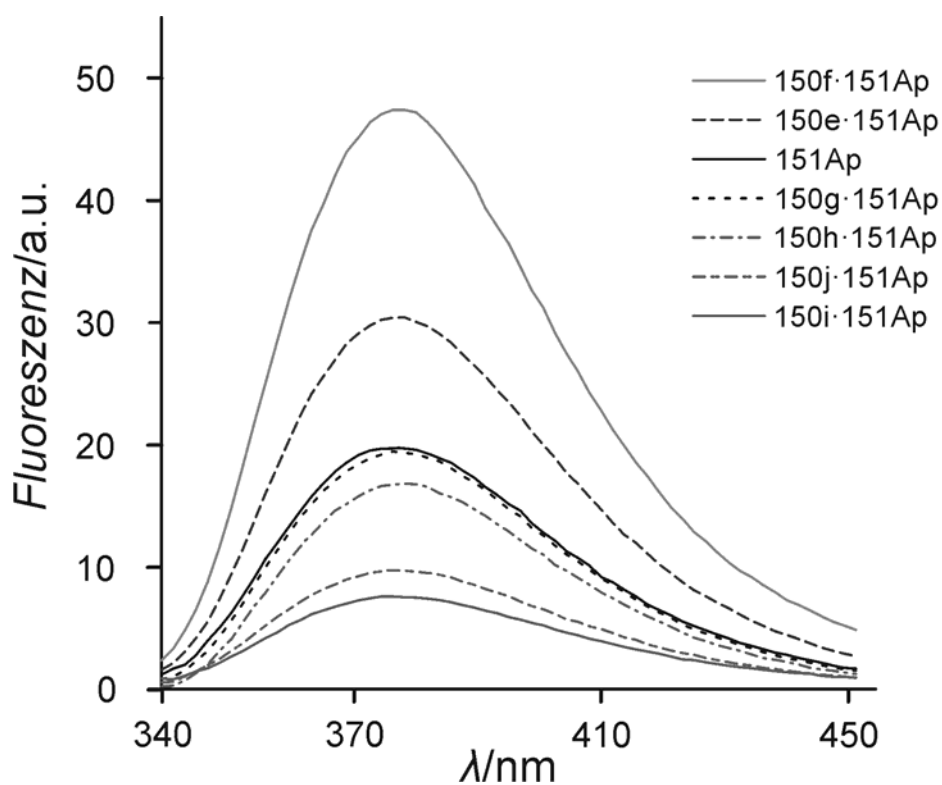


Abb.: 2-Aminopurin-Fluoreszenz des Oligonukleotides **151Ap** (Linie) und der Duplexe **150-151Ap**.
Bedingungen: 1 mM, 0.1M NaCl, 10mM NaH₂PO₄, 15mM MgCl₂, pH7, 25°C, Anregung $\lambda_{\text{ex}} = 305$ nm.

Danksagung

Meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Oliver Seitz danke ich für das interessante Forschungsthema, die intensive Betreuung und die guten Arbeitsbedingungen.

Den Korrekturlesern des Manuskriptes Heike Rohde, Christian Scheibe und Lucas Bethge möchte ich für eine gründliche und kritische Durchsicht und die hilfreichen Anregungen danken.

Desweiteren möchte ich mich bei der gesamten Arbeitsgruppe für die gute Zusammenarbeit bedanken. Dr. Ishwar Singh möchte ich für seine Hilfe bei der Einarbeitung in das Projekt danken. Dr. Brian Davies aus der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Christoph Arenz danke ich für die Hilfe bei der Oligonucleotidsynthese. Meinen Laborkollegen Barbara Meinelt, Brigitte Redlich, Dr. Andrea Knoll, Dr. Ishwar Singh, Jennifer Hemmings, Josefine Schmalisch, Christian Scheibe und Frank Abendroth danke ich für das gute Arbeitsklima, die Hilfsbereitschaft und die Möglichkeit zur Diskussion.

Den Forschungspraktikanten Xenia Touarev und Sebastian Arndt möchte ich für ihre Arbeit danken. Mein besonderer Dank gilt der fleißigen Arbeit von Josefine Schmalisch und Jennifer Hemmings. Die von ihnen durchgeführten Synthesen waren für mich eine wichtige Unterstützung.

Zu guter Letzt möchte ich mich bei meinen Eltern für ihre Unterstützung in den vergangenen Jahren bedanken.

Lebenslauf

Wird im Internet nicht veröffentlicht.

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, Sven Hainke, die vorliegende Dissertation selbstständig erarbeitet und verfasst zu haben. Es wurden keine weiteren Quellen und Hilfsmittel als die hier angegeben verwendet.

Unterschrift